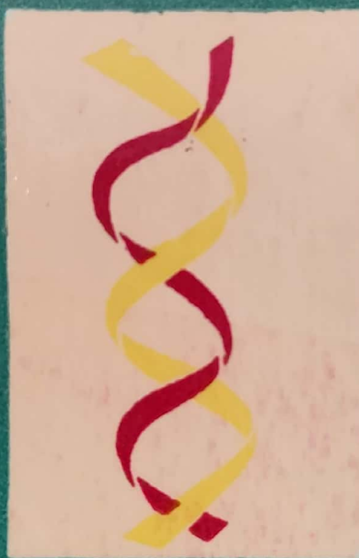
BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI MEDICINA MODERNĂ

APLICAȚII CLINICE

VOL. II



sub redacția
prof. O. FODOR

editura medicală

BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI MEDICINA MODERNĂ

vol. II (aplicații clinice)

Sub redacția Prof. O. FODOR



EDITURA MEDICALĂ — BUCUREȘTI, 1971



LISTA COLABORATORILOR

Dr. **I. N. BOERIU**, conferenţiar, Clinica a III-a medicală.
Dr. **LIDIA CUCU-CABADAIEF**, şef de lucrări, Clinica I pediatrie.
Dr. **B. CUPARENCU**, profesor, şeful Catedrei de farmacologie.
Dr. doc. **O. FODOR** membru corespondent al Academiei R. S. România, profesor, Clinica a III-a medicală.
Dr. **A. IVANOF**, conferenţiar, Catedra de microbiologie.
Dr. **GH. JEBELEANU**, cercetător, Catedra de biochimie.
Dr. doc. **I. MANTA**, profesor, şeful Catedrei de biochimie.
Dr. **OCTAVIA MARGINEANU**, conferenţiar, Clinica a II-a de pediatrie.
Dr. **M. MORARIU**, asistent, Clinica de neurologie.
Dr. **T. MUREŞIAN**, cercetător principal, Laboratorul de imunologie, Institutul oncologic Cluj.
Dr. **E. NEUMANN**, şef de lucrări, Clinica I chirurgie.
Dr. **G. NICOARĂ**, asistent, Clinica a III-a medicală.
Dr. doc. **I. PĂCURARIU**, profesor, şeful Clinicii oftalmologie.
Dr. **N. PĂRĂU**, cercetător principal, Clinica a III-a medicală.
Dr. **RODICA POP**, asistentă, Clinica de oftalmologie.
Dr. **L. ROMAN**, cercetător, Laboratorul de chirurgie experimentală, Institutul oncologic Cluj.
Dr. **M. ŞERBAN**, şef de lucrări, Clinica de neurologie.
Dr. **AURELIA SîRBU**, conferenţiar, Clinica de psihiatrie.
Dr. **L. SULICA**, asistent, clinica a III-a medicală.
Dr. **STELA URCAN**, cercetător principal, Institutul de sănătate publică şi cercetări medicale Cluj.
Dr. **R. VLAICU**, conferenţiar, Clinica I medicală.

CUVÎNT ÎNAINTE

Editura medicală ne oferă, în continuare, posibilitatea prezentării în acest volum a expunerilor din domeniul biologiei moleculare făcute în conferințe publice de către un grup de colaboratori din Institutul medico-farmaceutic din Cluj.

Exprimăm mulțumirile noastre Editurii medicale și de asemenea călduroase mulțumiri distinșilor autori. Apariția celui de al doilea volum, care reprezintă conferințele ținute în anul 1968/1969, a fost indiscutabil stimulată de buna primire a primului volum.

Nu credem că există în prezent un domeniu de mai mare efervescență și actualitate în biologie decît cel al biologiei moleculare. Am considerat potrivit ca medicii să intre cît mai curînd în posesia cunoștințelor cuvenite, a rezultatelor din acest domeniu, care încep să aibă o foarte mare importanță în dezvoltarea biologiei și a medicinei în general, precum și în cea a practicii medicale. Lucrări de sinteză din acest domeniu sînt în general puține, iar transmiteri scrise potrivite activității practice medicale și mai puține sau aproape de loc în limba română. Această lipsă ar dori să o suplinească — în cît de mică măsură — această culegere de expuneri, axată cu deosebire spre genetica medicală.

Conf. I. Chiricuță, prin specialitatea sa, interesat în mod deosebit în acest domeniu, cu dinamismul și entuziasmul care îl caracterizează, are un apreciabil merit la această realizare. De asemenea, menționăm importanta contribuție a doctorilor G. Simu, O. Bîrzu, L. Sulica și C. Olinici, la definitivarea materialului.

Cluj, martie 1970

O. Fodor

CUPRINS

Capitolul I

NOŢIUNI DE CITOGENETICĂ UMANĂ

Stela Urcan

Concepţia de bază a eredităţii constă din faptul că materialul ereditar provenit în părţi egale de la fiecare părinte îşi menţine identitatea din generaţie în generaţie. Acest material se găseşte în nucleu, unde este inclus în cromozomi, care la rîndul lor sînt purtătorii genelor, fiecare genă controlînd o funcţie celulară specifică. Studiul modificărilor cromozomiale vizibile microscopic şi al corespondentului lor din interfaza nucleară, în relaţie cu tulburări genetice asociate, constituie obiectul citogeneticii.

Citogenetica s-a născut ca ştiinţă la o dată foarte recentă, în 1956, cînd J. H. Tjio şi A. Levan (59) stabilesc numărul cromozomilor la om la 46. Pînă atunci se credea că acest număr este de 48. Interesul pentru studiul cromozomilor este desigur mult mai vechi. Termenul de cromozomi a apărut pe la mijlocul secolului trecut, cînd au fost observaţi în nucleu aceşti „corpi minusculi cu afinitate pentru anumiţi coloranţi bazici". Probabil, cea dintîi descriere a cromozomilor în material uman a fost făcută de J. Arnold (1), în anul 1879, în ţesuturile tumorale. Cu tot interesul citologilor conoştienţi de importanţa cromozomilor, primele date în legătură cu numărul acestora sînt contradictorii. H. de Winiwarter (64), în 1912, stabileşte numărul cromozomilor la 47 la bărbaţi şi 48 la femei. T. S. Painter (39), prin 1921, descoperă cromozomul y la bărbat şi conchide, în anul 1923, că la om există 48 de cromozomi: 46 somatici şi 2 cromozomi sexuali. În această eroare s-a persistat pînă în anul 1956, cînd Tjio şi Levan, cum am mai amintit, utilizînd culturi tisulare somatice de embrion uman şi şocul hipotonic, stabilesc definitiv numărul cromozomilor la 46. Această îndelungată eroare se datoreşte, pe de o parte, dificultăţilor tehnice şi materialului nepropice, material prelucrat *post mortem* şi, pe de altă parte, unui anumit respect pentru publicaţii anterioare, care i-a făcut pe unii autori să-şi părăsească cercetările, deoarece rezultatele lor nu se armonizau cu cele precedente. Y. Mellander şi colab. (31) îşi întrerupseseră cercetările pe celule hepatice de embrion uman unde găseau constant 46 cromozomi fiindcă nu corespundeau cu datele pînă atunci publicate. Reuşita lui Tjio şi Levan a fost pregătită de extinderea utilizării culturilor tisulare şi de

observaţia lui T. C. Hsu (21) în sensul că şocul hipotonic permite dispersiunea cromozomilor şi oferă astfel o mai bună vizualizare a lor. C. E. Ford şi J. L. Hamerton (14), tot în 1956, confirmă numărul de 46 şi pentru cromozomii din celulele sexuale. De la această dată, interesul pentru citogenetică creşte brusc, se produce o adevărată „goană după aur" (21) şi publicaţiile de citogenetică se succed într-o cantitate şi un ritm uluitor. Apar un număr de descoperiri fundamentale, cum este cea a lui J. Lejeune, M. Gauthier şi R. Turpin (28), care în 1959 descriu trisomia 21 în mongolism, iar Patricia A. Jacobs şi J. A. Strong (23), în 1959, descoperă formula XXY în sindromul Klinefelter. În 1960, reuniunea de la Denver a citogeneticienilor, comparînd datele publicate, stabileşte un sistem standard de clasificare a cromozomilor, acceptat şi utilizat în toate lucrările. În afară de studiul cariotipului, citogenetica mai cuprinde şi studiul cromatinei sexuale observată încă din anul 1949 de Barr şi Bertram (2) şi care aplicată la om a contribuit la elucidarea aberaţiilor cromozomilor sexuali. Contribuţia adusă de citogenetică pentru medicină este deosebit de valoroasă şi cu introducerea unor tehnici ca autoradiografia, precum şi utilizarea informaţiilor de biochimie şi biologie moleculară, se prevăd şi în viitor contribuţii valoroase din partea ei.

STUDIUL CARIOTIPULUI UMAN

Cromozomii, aşa cum sînt ei studiaţi în laborator, sînt cromozomii din metafaza mitozei. Un cromozom în metafază apare constituit din două jumătăţi numite cromatide unite printr-un centromer (fig. I, 1). Fiecare cromatidă este alcătuită dintr-un fir strîns spiralat, denumit cromonema. În metafază, spiralarea este atît de strînsă, încît nu este vizibilă. Cromonema este alcătuită din ADN, histonă şi o proteină incompletă. În profaza precoce înainte de spiralizare, pe aceste cromoneme se văd granule înşirate ca mărgelele pe un fir de aţă: cromomerele. Centromerul desparte fiecare cromatidă în două braţe. Cromatidele, mai ales în stadiile precoce ale diviziunii celulare, nu se colorează uniform ci există zone mai intense de heterocromatină şi unele mai pale, eucromatina. Heterocromatina este distribuită mai aproape de centromer şi de extremităţile braţelor. Fracturile cromatidelor, care duc la anomalii structurale, au loc la joncţiunea dintre hetero- şi eucromatină. Natura heterocromatinei nu este încă elucidată complet. Se admite în general că eucromatina este mai activă genetic decît heterocromatina. Centromerul are o poziţie fixă în cromozomi, care împreună cu lungimea braţelor serveşte drept criteriu la identificarea cromozomilor. Cromozomii apar dispuşi în perechi, ei sînt

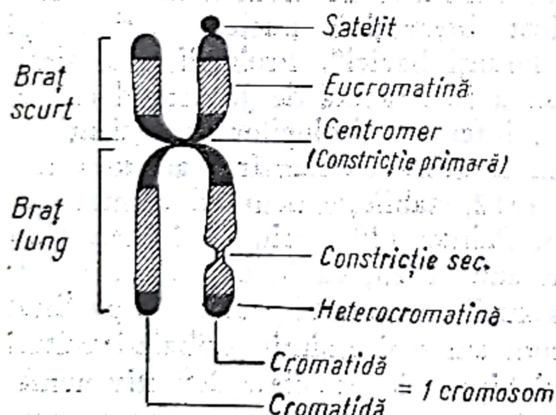


Fig. I, 1. Părţile unui cromozom în metafază [după R. R. Eggen (12)].

identici în celulele somatice şi se numesc autozomi, în timp ce cromozomii sexuali, fiind diferiţi se numesc heterozomi: XY la bărbat şi XX la femeie.

Diviziunea celulară normală. Scopul diviziunii celulare este împărţirea zestrei ereditare în părţi egale la noile generaţii de celule. Diviziunea din celulele somatice se numeşte mitoză, iar cea din celulele germinale, meioză şi are ca rezultat producerea gameţilor. De fapt, diviziunea începe în interfază, prin replicarea helixului de ADN. Celulele somatice au un număr diploid de cromozomi (23 de perechi), iar gameţii au un singur set, sînt haploizi, deci au numai 23 de cromozomi. Celulele cu un număr normal de cromozomi sînt euploide, cele cu număr anormal sînt aneuploide. Celulele aberante pot avea 3 seturi (deci să fie triploide), 4 seturi (tetraploide) sau mai multe (poliploide).

Mitoza produce două celule fiice al căror complement cromozomial este identic numeric, fizic şi chimic cu cel al celulei din care provin. Ea se desfăşoară de-a lungul a 5 faze: interfaza, profaza, metafaza, anafaza şi telofaza. În *interfază*, metabolismul nuclear este foarte viu, conţinutul în ADN creşte progresiv, astfel că imediat înaintea profazei cantitatea lui se dublează. În *profază*, cromatina începe să se condenseze, luînd forma cromozomilor alungiţi, filamentoşi, de aspectul unor şiraguri de mărgele (fig. I, 2). Spre sfîrşitul profazei, cromozomii apar tot mai condensaţi şi survine diviziunea lor longitudinală în două cromatide unite prin centromer. Au loc modificări şi în restul celulei, membrana nucleară dispare, iar centrozomul se divide şi cele două jumătăţi migrează la cei doi poli opuşi. Debutul *metafazei* este treptat, cromozomii se aranjează într-un disc în centrul celulei la întîmplare. Se formează aparatul fusiform, fiecare centromer fiind legat prin firele lui de cei doi centrozomi opuşi. Colchicina împiedică formarea fusului şi opreşte astfel mitoza în metafază, uşurînd dispersia cromozomială. Utilizarea colchicinei a jucat un rol important în ameliorarea tehnicilor de citogenetică. *Anafaza* începe prin scindarea fiecărui centromer şi separarea cromatidelor, fenomen denumit disjuncţie. Cromatidele separate migrează la polii celulei şi fiecare devine un nou cromozom. *Telofaza* este inversul profazei: cromozomii se alungesc, devin filamentoşi şi se dispersează în cromatina nucleară. Concomitent apare şi membrana nucleului. Noua celulă, iniţial cu doi nuclei se divide prin apariţia unui perete celular între aceştia. (fig. I, 3).

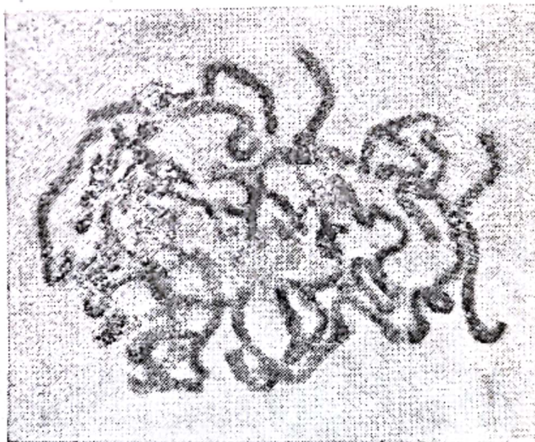


Fig. I. 2. Nucleu în profază [*după* R. R. Eggen (12)].

Meioza se desfăşoară printr-un mecanism mult mai complex, cuprinzînd două diviziuni succesive, meioza I şi meioza II, care produc 4 gameţi haploizi. Cele două meioze sînt separate printr-o scurtă fază inactivă şi fiecare cuprinde cele 5 stadii cunoscute. În meioza I, profaza este foarte lungă şi cuprinde ea însăşi 5 stadii: leptoten, zigoten, pahiten, diploten şi diachineza. Ea începe prin

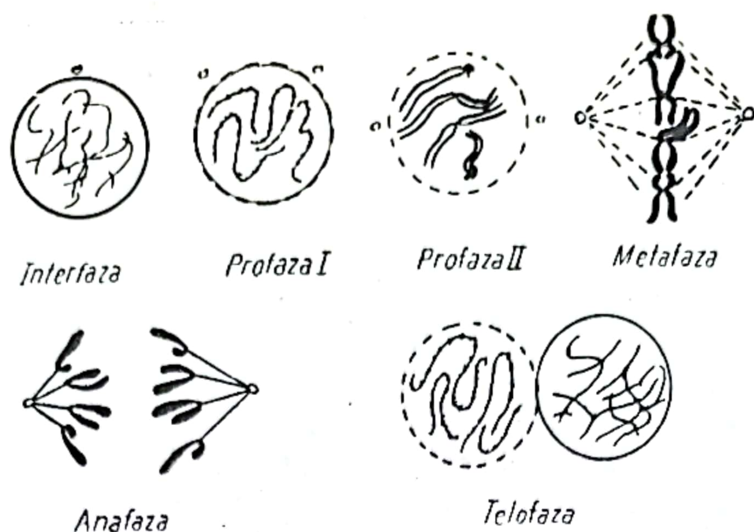


Fig. I. 3. Mitoza [după R. R, Eggen (12)].

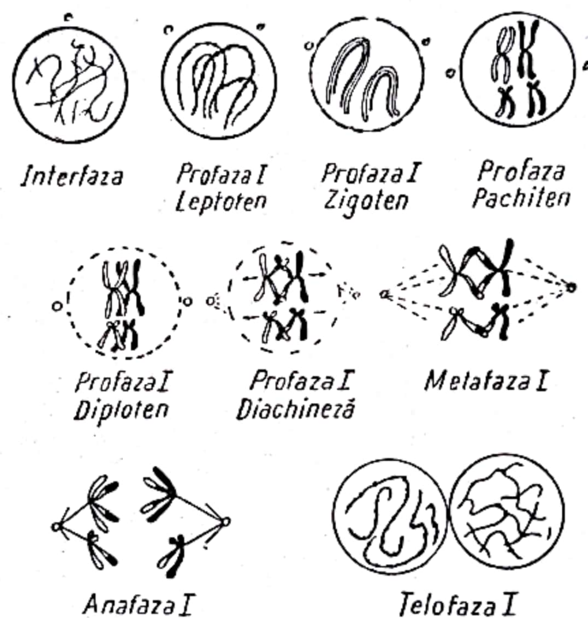


Fig. I. 4. Meioza I [după R. R. Eggen (12)].

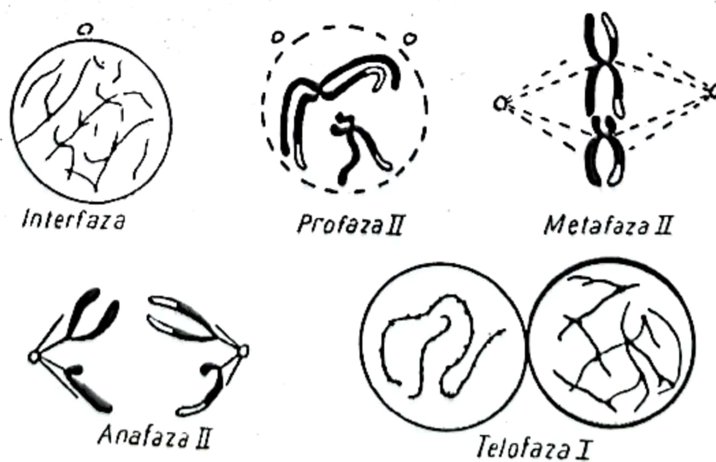


Fig. I. 5. Meioza II [după R. R. Eggen (12)].

condensarea cromatinei în fire subţiri, formînd un buchet, capetele lui fiind concentrate într-un punct de la periferia nucleului. În zigoten se produce apoi o împerechere a cromozomilor omologi, sinapsa, care constă într-o apoziţie foarte strînsă şi precisă, astfel că împerecherea se extinde pînă la nivel de subgenă şi chiar la nivel de nucleotidă. În pahiten, membrii fiecărei perechi devin mai scurţi, se află într-o apoziţie strînsă, uneori chiar în contact unul cu altul. Apare apoi clivarea longitudinală în cromatide, astfel că fiecare pereche cromozomială este acum o tetradă. În diploten dispare forţa de atracţie care unea cei doi cromozomi ai unei perechi şi ei încep să se îndepărteze, rămînînd totuşi ataşaţi în anumite puncte, chiasme care sînt locurile în care are loc interschimbul de material genetic între membrii fiecărei perechi. Acest schimb intercromozomal de material genetic se numeşte *crossing-over*. Numărul chiasmelor este în funcţie de lungimea cromozomului; pot exista pînă la 5 chiasme, iar în întregul complement uman pot fi întîlnite pînă la 60 de chiasme. Cromozomii sexuali neomologi XY se aşază mai de grabă cap la cap în timpul sinapsei, astfel că există puţine dovezi că s-ar putea forma chiasme şi între aceştia. În diachineză, membrii perechii se despart rămînînd ataşaţi doar la capete. În metafază se completează fusul, dar centromerul nu are o ataşare bipolară, ci fiecare centromer este ataşat de un singur centrozom. În anafază, spre deosebire de mitoză, centromerul nu se divide, cromatidele nu se separă, ci întregul cromozom al unei perechi este atras la un pol şi omologul său la celălalt. Astfel, cei doi membri ai unei perechi, patern şi matern, sînt separaţi şi se produce o *diviziune reducţională*, la sfîrşitul metafazei apărînd cele două celule fiice haploide (fig. 1, 4). *Meioza II* este o diviziune ecuaţională, în care ca şi în mitoză, centromerul se divide şi cromatidele fiecărui cromozom se desparte şi migrează la cei doi poli, se produce deci o disjuncţie. Diferenţa între mitoză şi meioză este că în prima produsul este diploid, iar în meioză este haploid. În meioză, deşi există două diviziuni succesive, helixul de ADN se replică o singură dată (fig. 1, 5). *Crossing over*-ul prezent în meioză dar care n-a fost demonstrat în mitoză, contribuie în mare măsură la eterogenitatea genetică. Complexitatea meiozei face ca în decursul ei susceptibilitatea la anomalii cromozomiale să fie mai mare decît în mitoză.

IDENTIFICAREA CROMOZOMILOR UMANI

Datorită progreselor tehnice realizate, sîntem astăzi în măsură să determinăm cariotipul adică să analizăm aspectul numeric şi structural al cromozomilor (6, 12, 32, 42, 60). Principiul cariotipizării constă din recoltarea de celule capabile de diviziune, cultivarea şi examinarea lor în metafază. Materialul cel mai frecvent utilizat este sîngele periferic, celulele care se divid fiind limfocitele. Cariotipul se mai poate determina din măduva osoasă, piele, fascii, lichide seroase, ţesut tumoral. Ca medii de cultură se utilizează cele obişnuite pentru culturi tisulare. Se adaugă o fitohemaglutinină, care are o componentă stimulantă a mitozei precum şi colchicină, care distruge corpul fusiform şi opreşte diviziunea în metafază. Ea are şi un efect de contractare asupra cromatidelor, făcîndu-le mai scurte şi mai bine conturate. Tratarea cu

soluţii hipotone umflă celula şi dispersează cromozomii. Frotiurile sînt uscate, colorate cu un colorant bazic cu afinitate pentru ADN: Giemsa, orceină, Feulgen; se fotografiază, se măresc de aproximativ 3 000 de ori şi cromozomii se decupează şi apoi se clasifică. Este meritul conferinţei de la Denver din 1960 de a fi stabilit un sistem standard de clasificare a cromozomilor în funcţie de poziţia centromerului şi lungimea braţelor. Perechile cromozomiale sînt împărţite în 7 grupe, notate de Patau cu litere de la A la G (fig. I, 6).

Grupa A (I) — perechile 1—3, cromozonii cei mai mari cu centromer median sau aproape median. Cele trei perechi se deosebesc între ele prin dimensiune şi poziţia centrometrului.

Grupa B (II) — perechile 4—5, cromozomii mari, cu centromer submedian; sînt greu de deosebit între ei, dar cromozomul 4 este ceva mai lung.

Grupa C (III) — perechile 6—12 şi cromozomul X cuprinde cromozomi cu centromeri submediani. Cromozomul X se aseamănă cu cei mai lungi, în special cu perechea 6.

Grupa D (IV) — perechile 13—15, cromozomi mijlocii, acrocentrici cu sau fără sateliţi.

Grupa E (V) — perechile 16—18, cromozomi mai mici cu centromeri aproape median.

Grupa F (VI) — perechile 19—20, cromozomi mici cu centromer median.

Grupa G (VII) — perechile 21—22 şi cromozomul Y cromozomi foarte mici acrocentrici care, cu excepţia lui Y, pot avea sateliţi (fig. 1, 7).

Includerea perechilor într-una din cele 7 categorii nu este prea grea. Extrem de dificilă este numerotarea fiecărei perechi şi acest fapt necesită un ochi foarte experimentat. Se utilizează în acest scop prezenţa sateliţilor, constricţiile secundare şi autoradiografia. Experienţa numeroşilor citogeneticieni, sintetizată în conferinţele de la Londra din 1963 şi Chicago din 1966 (6), a adus precizări utile relativ la identificarea cromozomilor. Astfel, s-a insistat asupra demonstrării constricţiilor secundare şi a încorporării diferite a timidinei tritiate în anumiţi cromozomi. S-a mai subliniat că în grupa A se observă constricţii secundare în regiunea proximală a braţului lung, că la femei un cromozom din grupa C încorporează mai tîrziu timidina marcată, acesta fiind un cromozom X. Cromozomul Y este mai mare decît cromozomii 21 şi 22, braţele sale lungi sînt mai apropiate şi adesea prezintă o constricţie secundară pe braţul lung. Conferinţa de la Chicago a propus o nomenclatură pentru descrierea complementului cromozomial uman şi a aberaţiilor sale, precum şi o serie de simboluri care să fie utilizate de toţi citogeneticienii. Se admite în general că cromozomii umani variază din punct de vedere morfologic la persoane fenotipic normale. Limitele normale ale acestei variabilităţi în diferitele populaţii nu au fost încă stabilite, astfel că mai sînt necesare studii la nou-născuţi sau subgrupe ale populaţiei.

Studii autoradiografice (6, 21, 51). Celulele în diviziune îşi dublează acidul lor dezoxiribonucleic în timpul unei perioade specifice din interfază, denumită perioada S. Această perioadă S este specifică pentru o anumită specie şi linie celulară. Secvenţa replicării ADN în diverşii cromozomi şi segmente cromozomiale poate fi studiată prin analiza autoradiografică a distribuirii şi încorporării unui precusor radioactiv în ADN în cursul diferitelor

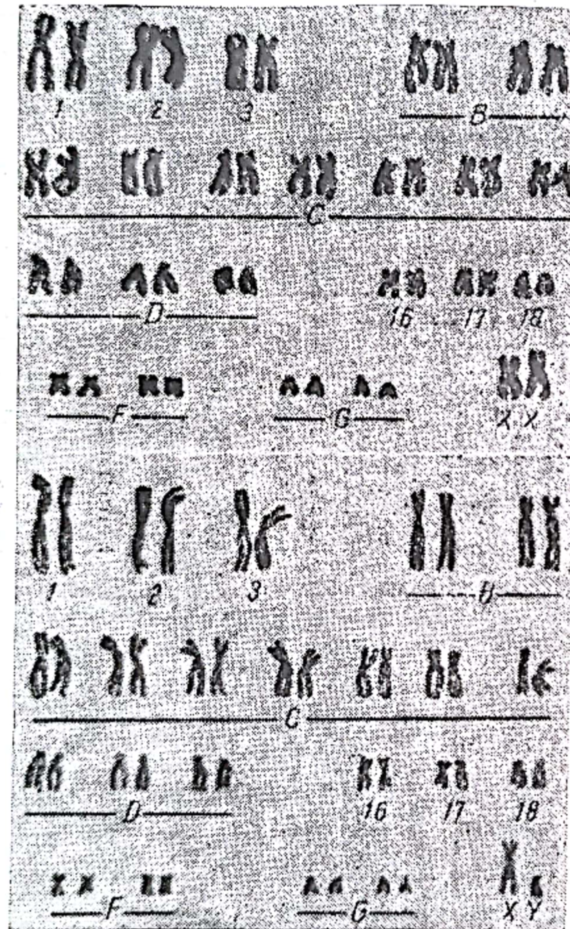


Fig. I. 6. Cariotipul uman normal.

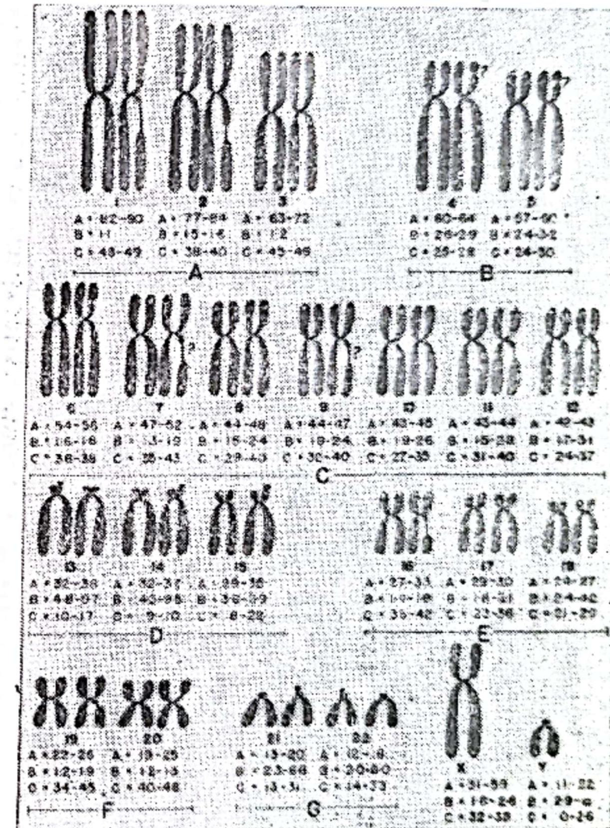


Fig. I. 7. Idiograma cromozomilor umani.
A—Lungimea relativă, *B*—raportul braț lung/braț scurt; *C*—indexul centromeric [*după* *R. R. Eggen* (12)].

porțiuni ale perioadei S. Această analiză se poate face prin inspecție vizuală sau determinări cantitative. S-au observat diferențe ale încorporării între cromozomi, în special cînd aceasta este limitată la faza terminală a perioadei S. Aceste diferențe, alături de criteriile morfologice standard, pot fi utilizate la caracterizarea grupelor de cromozomi. Astfel, autoradiografia este utilă pentru diferențierea unui cromozom X față de ceilalți cromozomi din grupa C și pentru a identifica cromozomii X cu anomalii structurale. Cu anumite limitări, tehnica poate fi utilizată în diferențierea cromozomilor din grupele B, D și E, în caracterizarea perechilor 1—3 și 16 și în interpretarea aberațiilor numerice și structurale. Totuși, datele acumulate din literatură relevă că nu există dovezi concludente că ADN din cromozomii umani omologi se replică în mod sincron. Astfel, identificarea prin autoradiografie a anumitor cromozomi, ca și asocierea unor cromozomi particulari cu anumite îmbolnăviri rămîne încă nesatisfăcătoare (55).

CARTOGRAFIEREA CROMOZOMILOR

Este vorba de identificarea la om, a anumitor zone care poartă genele unor caractere date și care este abia la început. Tehnicile utilizate la organismele inferioare au o aplicație foarte restrînsă la om. Alterațiile cromozomiale evidente nu sînt compatibile cu viața, iar modificările minime așteaptă tehnici de finețe. Studiile de *linkage* s-au dovedit utile, indicînd că anumite gene sînt situate pe același cromozom, acesta rămînînd să fie identificat. Pînă în prezent s-au stabilit următoarele 5 *linkages* autozomale: sistemul de grupă sanguină Lutheran și gena secretoare (49), eliptocitoza cu grupele sanguine Rh (5), sindromul „unghie-rotulă“ cu locusul ABO (45), sistemul de grupă sanguină Duffy cu cataracta pulverulentă (46) și locusul transferinei Tf cu cel al colinesterazei serice E_1 (47). Transmiterea legată de sex a unor caractere a permis localizarea ipotetică pe cromozomul X a unor anumite gene, cum ar fi cele pentru factorul antihemofilic IX, angiokeratoză, ichtioză, grupa sanguină Xg, glucozo-6-fosfatdehidrogenaza, nevederea culorilor, factorul antihemofilic VIII, distrofia musculară tip Duchenne (10). Recent s-au sugerat și unele localizări pe autozomi, de exemplu locusul grupei sanguine MN pe brațul lung al cromozomilor 2 sau 4 (16), gena pentru fibroza chistică a pancreasului pe brațul scurt al cromozomului 5 (52), locusul α al haptoglobinei pe cromozomul 16 (48) (fig. I, 8).

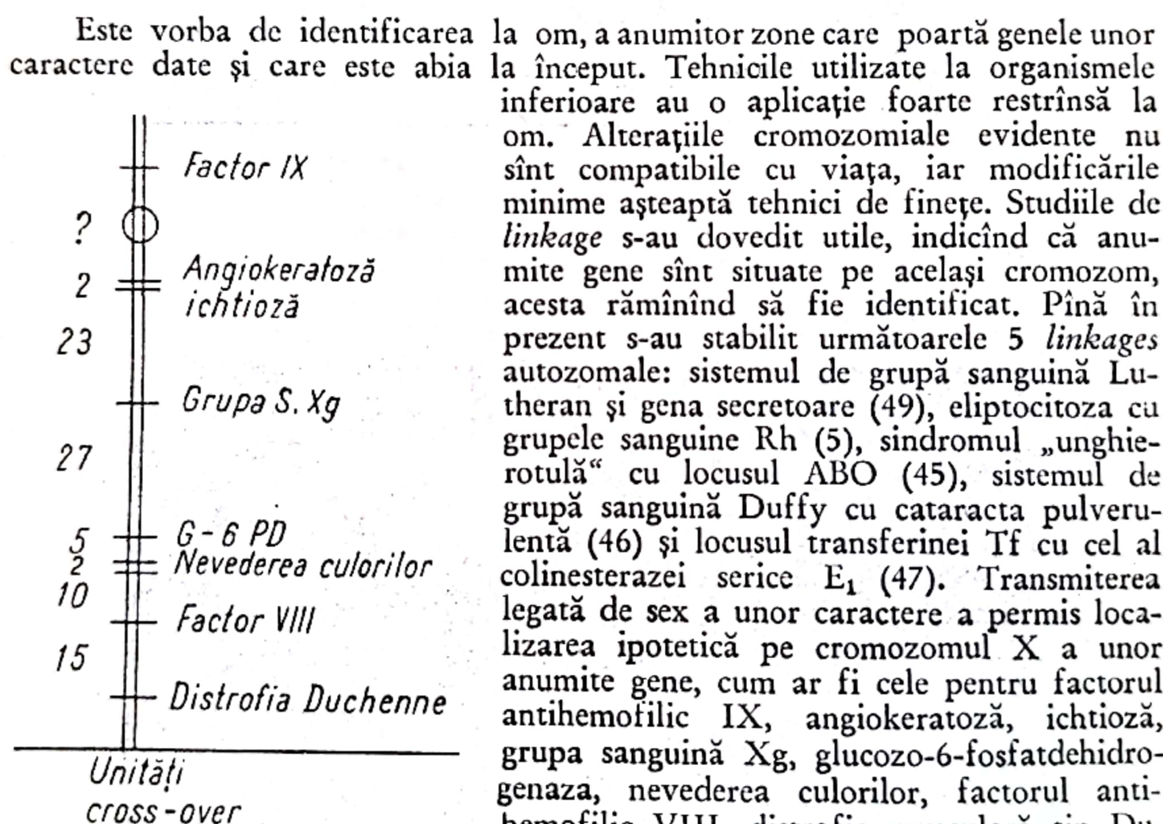


Fig. I. 8. Harta ipotetică a locilor pe cromozomul X [după W. M. Davidson (10)].

STRUCTURA BIOCHIMICĂ A CROMOZOMILOR UMANI (12, 22, 58, 62)

Dacă morfologia microscopică a cromozomilor, după studiile abundente din ultimii ani, este binecunoscută, visul tuturor citogeneticienilor rămîne descifrarea morfologiei moleculare şi a fiziologiei lor. În acest scop, cercetătorii sînt nevoiţi să facă apel la colaborarea biochimiştilor şi să combine structura moleculară a cromozomilor, părticică cu părticică, dintr-o varietate de surse adesea contradictorii. Pentru a studia metabolismul cromozomial mai activ în interfază, două metode sînt în special utilizate: microspectrofotometria şi autoradiografia. Microspectrofotometria este o metodă cu ajutorul căreia se poate măsura cantitatea de ADN dintr-un preparat microscopic şi să se exprime în unităţi absolute sau, în anumite condiţii, numai în valori relative. Principiul constă din a utiliza un colorant standard pentru ADN nuclear şi a măsura cantitatea de colorant care reprezintă de fapt cantitatea de ADN, prin trecerea unei lumini monocromatice adecvate prin nucleu. Măsurarea în acest fel a conţinutului în ADN cromozomial este utilă pentru a caracteriza setul cromozomial al unei specii sau al unui individ mai precis decît prin simpla măsurare a lungimii braţelor cromozomiale. O altă metodă pentru studiul metabolismului acizilor nucleici este autoradiografia. Izotopul utilizat este timidina tritiată pentru studiul ADN şi uridina tritiată pentru ARN, care se pot aplica animalului *in vivo* sau culturilor celulare *in vitro*.

Două tipuri de cromozomi întîlnite la unele animale inferioare joacă un rol deosebit în cercetările metabolismului cromozomial. Cromozomii politeni din nucleii celulelor epiteliului salivar şi intestinal de la *Drosophila* apar ca nişte cromozomi uriaşi şi rezultă dintr-o replicare repetată a ADN fără ca celula să se dividă, astfel că cromonemele rămîn alăturate, cu cromomerele aliniate, dînd aspectul de benzi. Aceste benzi servesc ca markeri şi modificările lor pot fi corelate cu tulburările ereditare. Cromozomii *lampbrush* sînt şi ei nişte megacromozomi aflaţi în celulele unor amfibieni din genul *Triturus*. Ei au un aspect penat, ca o consecinţă a separării cromozomului în şuviţe. Cele două benzi formează bucle laterale, în care cromomerele sînt spaţiate. Aceşti cromozomi uriaşi au servit mult în studiile de marcare cu izotopi. Ambele tipuri de cromozomi prezintă zone caracteristice de *puffing* numite şi inelele Balbiani, care sînt zone de intensă activitate metabolică cromozomială (fig. I, 9).

Suportul biochimic al eredităţii a fost studiat intens la microorganisme, dar nu avem încă un model corespunzător al arhitecturii chimice a cromozomilor la formele superioare de viaţă. Relaţia dintre molecula de ADN şi structura cromozomială este binecunoscută la bacterii care conţin o singură moleculă de ADN per genom, dispusă circular şi avînd un singur punct pentru sinteza ADN. La organismele superioare există cromozomi multipli, care au histone în compoziţia lor, un înveliş nuclear complex şi o diviziune celulară de asemenea complicată. La acestea nu se cunoaşte încă în ce mod moleculele de ADN sînt aşezate în cromozomi. Swift, analizînd datele din literatură, arată că în această

privință există două ipoteze: uninemă și polinemă (58). Conform primei ipoteze, cromozomul ar conține o singură moleculă de ADN care îl traversează de la un capăt la altul, sinteza ADN făcîndu-se semiconservativ. Forma bifilamentată a cromozomului la sfîrșitul mitozei ar corespunde helixului dublu de ADN. Teoria polinemă sugerează o mai mare complexitate și o structură multifilamentoasă. Ea se bazează în primul rînd pe dovada vizuală

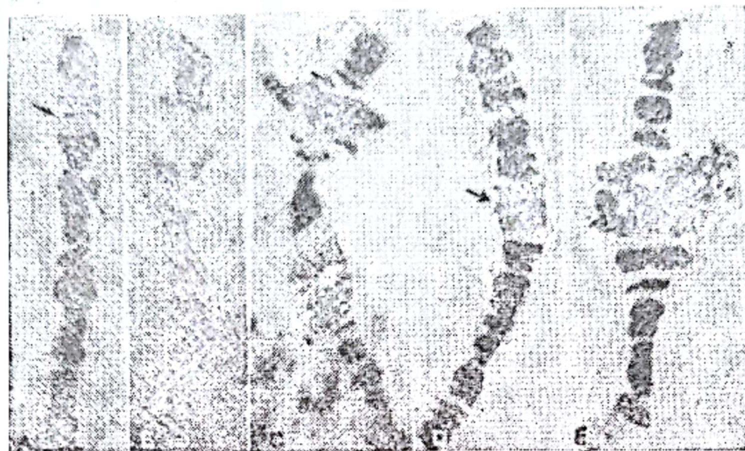


Fig. I. 9. Cromozomi uriași cu „*puff*"-uri. *A, B, C* — *puff*-uri de ARN la *Drosophila;* D, E — „*Puff*"-uri de ADN la *Sciara* [*după H. Swift* (58)].

a două filamente în cromozomul din anafază, apoi pe studiile de marcare cu timidină tritiată și pe aspectul multifilamentos în microscopia electronică. A fost propus un model asemănător cu structura cromozomilor *lampbrush,* în care o serie de bucle, fiecare reprezentînd probabil o singură unitate de transcripție, sînt înșirate de-a lungul axei centrale. S-ar presupune că această formă în bucle ar trece într-o formă liniară în timpul împerecherii meiotice (54).

Există încă multe necunoscute în legătură cu structura biochimică a cromozomilor. Unele studii recente acordă un mare interes histonei din compoziția lor. Se afirmă că genele reglatoare își exercită acțiunea inhibitorie asupra operonului prin intermediul unui represor histonic (62). S-a mai sugerat că histona din cromozomi este responsabilă pentru formarea heterocromatinei. Histonele bogate în lizină au un efect inhibitor mai mic decît cele bogate în arginină. Pierderea din celule a histonei bogată în arginină a fost implicată în etiologia neoplaziilor. După unele cercetări, heterocromatina este mai bogată în histone decît eucromatina, iar replicarea ADN este întîrziată în zonele heterocromatice.

MODIFICĂRI NUMERICE ȘI STRUCTURALE ALE CROMOZOMILOR

Anomaliile numerice ale cromozomilor se numesc aneuploidii. Ele pot afecta întregul set, numărul cromozomilor fiind un multiplu al lui *n*. Celulele haploide cu 23 cromozomi (1 *n*) apar în gameții normali sau ca anomalie în sarcina partenogenetică. Diploidia (2 *n*) este prezentă în țesuturile normale sau

ca anomalie în gameţii anormali diploizi. Triploidia constă din 69 de cromozomi (3 *n*), iar poliploidia are 4 *n* sau mai mulţi. Anomaliile pot afecta de asemenea unul sau mai mulţi cromozomi individuali: monosomie, cînd lipseşte un cromozom dintr-o pereche, cum este cazul sindromului Turner, unde este absent un X; trisomie, cînd un cromozom se află în triplicat, ca în sindromul Down; polisomie, cînd un anumit cromozom este prezent de 4 sau mai multe

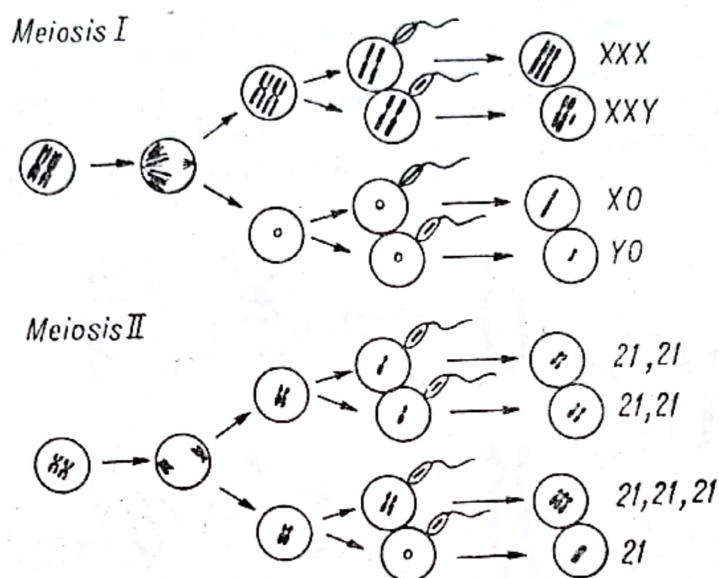


Fig. I, 10. Nondisjuncţia meiotică [*după R. R. Eggen* (12)]

ori. Cînd aberaţia numerică afectează toate celulele corpului vorbim de heteroploidie şi cînd numai o parte din celule sînt afectate, este vorba de mozaicism. Cromozomii supranumerari apar în mod ocazional la om (se pare că numai în stări patologice), în timp ce la plante şi animale pot surveni şi în absenţa modificărilor fenotipice (fig. I, 10).

Cauza cea mai frecventă a anomaliilor cromozomiale este *nondisjuncţia,* adică lipsa de separare şi migrare a cromatidelor, care trebuie să aibă loc în mitoză şi în cursul primei şi celei de-a doua diviziuni meiotice. Cele mai multe aneuploidii afectează cromozomii sexuali, pentru că aceştia au anumite particularităţi care predispun la nondisjuncţie. Cromozomii de sex au o tendinţă la replicare mai lentă a ADN şi cînd această asincronie este exagerată, ei rămîn ataşaţi la un pol al celulei, astfel că nu se face distribuţia egală în cele două celule fiice. Autozomii prezintă şi ei aneuploidii, dar nu există încă explicaţii suficiente pentru acest fenomen; una din ele ar fi că aneuploidiile sînt sub influenţa unei gene anumite, dovadă predispoziţia familială pentru anomalii cromozomiale. Există de asemenea o corelaţie între incidenţa defectelor congenitale şi vîrsta înaintată a mamei (în sindromul Down), mai puţin a tatălui, ceea ce sugerează că îmbătrînirea tulbură activitatea meiotică a celulelor ger-

minale. Aceasta se explică prin faptul că oocitul primar intră într-o lungă perioadă inactivă mitotic, care ține din viața intrauterină pînă la ovulație, în timp ce spermatocitele își continuă activitatea tot timpul vieții adulte.

ANOMALIILE STRUCTURALE ALE CROMOZOMILOR

Au o mai mare semnificație pentru patologie decît cele numerice. Ele reprezintă elementul fizic al evoluției, dar tehnicile sînt încă destul de grosolane și nu permit detectarea unor modificări structurale mai fine. Modificările structurale se datoresc rupturilor cromozomiale și lipirii fragmentelor rupte cu interschimb de material genetic între cromozomii afectați. Fragmentele rupte, care nu conțin centromer, de obicei se pierd. Iată cîteva exemple de anomalii structurale:

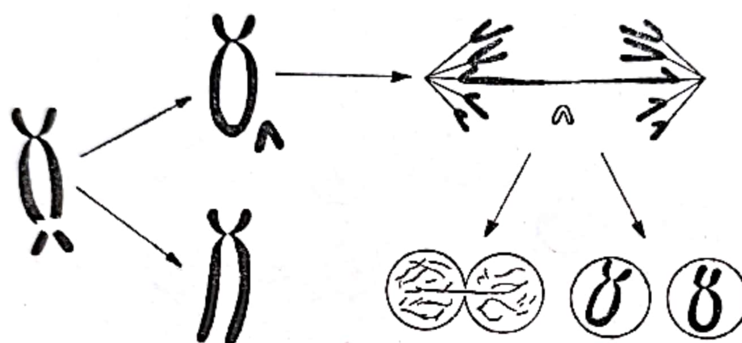


Fig. I, 11. Ruptură cromozomială [*după* R.R.Eggen (12)].

Deleția este pierderea de material genetic datorită unei rupturi cromozomiale. Cel mai cunoscut exemplu este cel al deleției brațului unui acrocentric mic din mieloleucoza cronică, cunoscută sub denumirea de cromozomul Philadelphia (fig. I, 12).

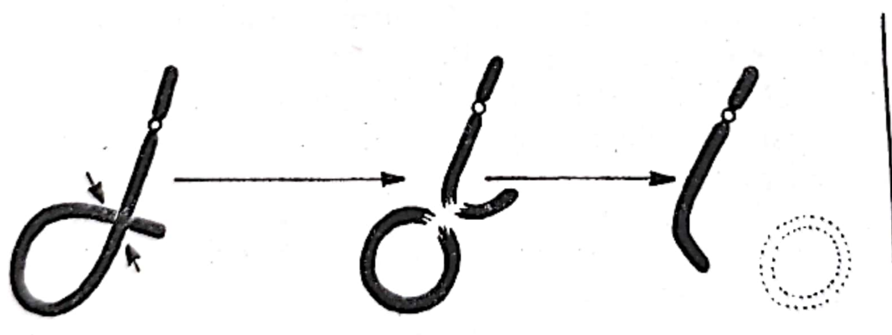


Fig. I, 12. Deleție [*după* R. R. Eggen (12)].

Translocația constă dintr-un schimb de material genetic între doi cromozomi neomologi. Ea este o consecință a unor rupturi simultane în doi cromozomi cu realipirea greșită a fragmentelor și este una dintre cele mai frecvente aberații la om. Într-un studiu pe 2 159 de nou-născuți, translocația D/D a

fost prezentă cu o frecvență de 0,1%, cifră care sugerează că această formă de anomalie ar putea reprezenta cea mai frecventă variație structurală la om (50) (fig. I, 13).

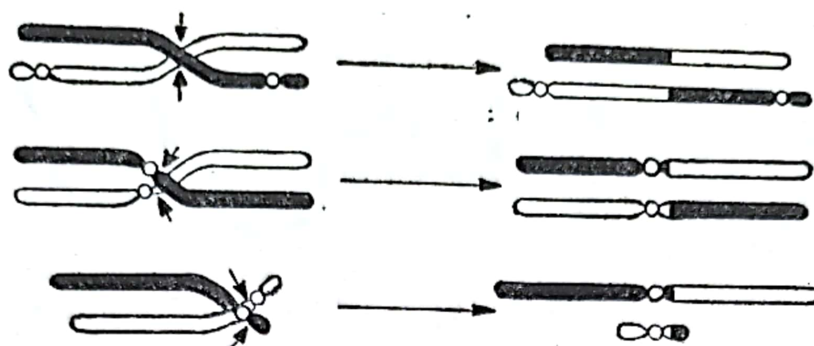


Fig. I, 13. Translocația asimetrică (sus) și simetrică (jos) [*după R. R. Eggen* (12)].

Duplicația produce un cromozom în care un segment este prezent în doză dublă și rezultă mai adesea dintr-un *crossingover* inegal (fig. I, 14).

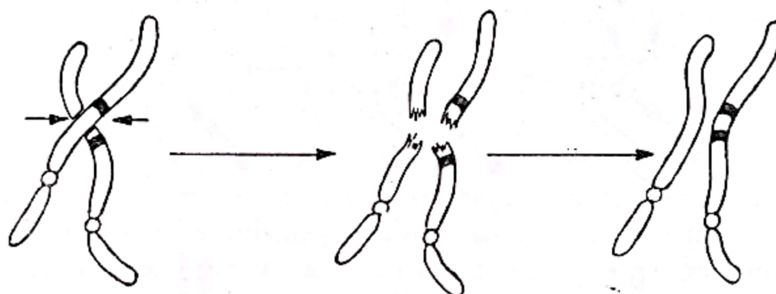


Fig. I, 14. Duplicația [*după R. R. Eggen* (12)].

Isocromozomii. Un isocromozom are două brațe absolut identice și poartă aceiași loci genetici. Ei se formează prin două mecanisme: prin fuziunea centrică între doi cromozomi omologi fracturați la nivelul centromerului sau prin

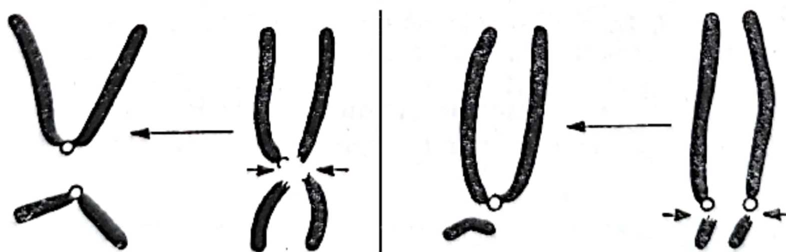


Fig. I, 15. Formarea izocromozomilor [*după R. R. Eggen* (12)].

reunirea firelor surori într-un singur cromozom dacă are loc o fisiune transversă a cromozomului după formarea celor două cromatide (fig. I, 15).

Cromozomii inelari se formează prin ruperea la cele două capete ale aceluiaşi cromozom şi relipirea lor. Ei sînt frecvenţi în celulele iradiate (fig. I, 16).

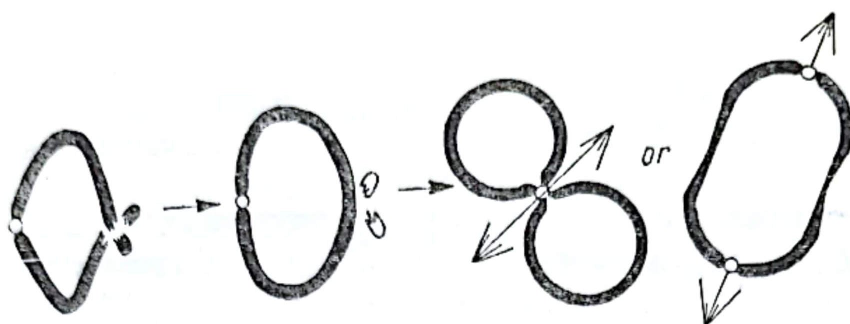


Fig. I. 16. Formarea cromozomilor inelari [*după R.R. Eggen* (12)].

Inversiunea rezultă din ruptura dublă a unui singur cromozom în care segmentul dintre cele două rupturi se rotează cu 180° şi se realipeşte. Nefiind vorba de o pierdere de material genetic, efectele fenotipice nu sînt evidente şi sînt greu de detectat.

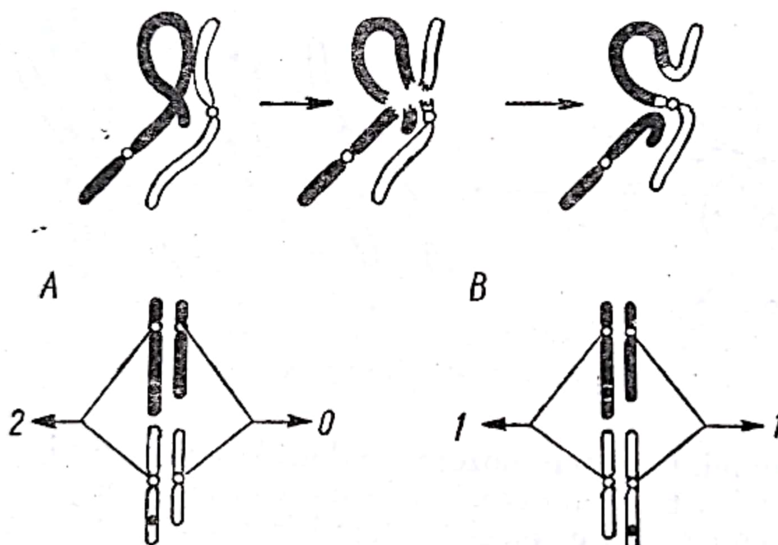


Fig. I, 17. Formarea inserţiilor [*după R. R. Eggen* (12)].

Inserţia rezultă din trei fracturi cromozomiale la doi cromozomi şi fragmentul rupt de pe un cromozom este realipit pe celălalt (fig. I, 17).

ETIOLOGIA ANOMALIILOR CROMOZOMIALE

Anomaliile pot fi produse prin două grupe de factori, intrinseci şi de mediu. Factorii intrinseci pot fi generali (vîrsta, complementul genetic) şi cromozomiali. Factorii extrinseci, de mediu, sînt radiaţiile, substanţele chimice virusurile şi bolile cronice metabolice sau infecţioase.

Radiațiile. Rolul radiațiilor a fost observat atît *in vitro* în culturi tisulare, cît și *in vivo*. Culturile celulare expuse razelor Röntgen prezintă modificări cromozomiale care sînt mai frapante cînd aceeași doză de iradiații se administrează în mai multe expuneri. Mediatorul efectelor razelor Röntgen sînt radicalii liberi de tip HO· și $HO_2^{\cdot}$. Aceste particule sînt foarte active, cu o serie de grupări chimice. La nivel cromozomial, leziunile se traduc prin fracturi ale cromozomilor sau ale cromatidelor. Celulele sînt de 5 ori mai sensibile la radiații în faza duplicării cromatidelor decît în interfază. Toate anomaliile structurale enumerate sînt posibile, cromozomii dicentrici și inelari fiind mai cu seamă prezenți. Cele mai numeroase defecte produse sînt structurale, aneuploidia fiind mai rară. Efectul *in vivo* asupra persoanelor iradiate și asupra urmașilor este mai puțin documentat. Există rapoarte despre anomalii cromozomiale apărute în celulele sanguine la persoane iradiate cu raze Röntgen sau care au primit doze terapeutice de I^{131}. Aceste anomalii își ating maximum cam la o săptămînă și pot dura mai mulți ani. Caratzali și colab., studiind cariotipul persoanelor iradiate cronic profesional, găsesc anomalii cromozomiale discrete în 20 din 78 de microfotografii examinate. Există de asemenea lucrări despre anomalii cromozomiale la descendenții părinților iradiați. Astfel, la 38 de supraviețuitori după bombardamentul atomic de la Hiroshima și Nagasaki, expuși *in utero*, frecvența aberațiilor cromozomiale a fost de 39% în contrast cu frecvența de 4% la persoanele de control (3). Într-un studiu la peste 6 000 de femei expuse unor examinări radiologice abdominale, se constată un risc crescut pentru nondisjuncție la descendenți (61).

Substanțele chimice. Inducerea aberațiilor cromozomiale prin substanțe chimice constituie un cîmp de intense investigații citogenetice. Substanțele chimice pot acționa prin mecanisme multiple: unele, ca azotiperita și endoxanul, se comportă ca radiomimetice, altele ca, de exemplu, colchicina, sînt toxice ale mitozei, altele acționează ca analogi nucleotidici. Unele substanțe, ca hidroxilamina sau actinomicina D, induc variate anomalii cromozomiale, de aceea au fost mult utilizate în experimente pentru evaluarea ipotezelor în legătură cu structura chimică a cromozomilor (22). Un interes deosebit s-a acordat leziunilor induse prin substanțe medicamentoase. Astfel, studii *in vivo* și *in vitro* au demonstrat că substanțe psihotrope ca clorpromazina, dietilamida acidului lisergic și altele pot produce aberații cromozomiale majore (8, 9, 37).

Virusurile. Rolul virusurilor în inducerea aberațiilor cromozomiale a fost intens cercetat atît la ființele inferioare cît și la om (24, 34, 35, 44, 56, 57). În celulele sanguine ale bolnavilor cu rubeolă au fost evidențiate frecvente anomalii. S-au publicat o serie de articole asupra apariției aberațiilor cromozomiale în culturi tisulare, induse de virusul herpetic, rujeolic, adenovirusuri etc. Nu se poate afirma cu certitudine dacă aceste leziuni sînt consecința directă a acțiunii virusului asupra ADN sau dacă ele sînt efectul secundar al tulburărilor metabolice în urma infecției și replicării virale. La bacterii sînt bine cunoscute mecanismele prin care virusurile induc modificarea funcției cromozomiale: lizogenia, transformarea, transducția. Este posibil ca aceste mecanisme să poată fi descoperite și în material uman.

Prima tehnică de citogenetică introdusă în practică, înainte chiar de punerea la punct a cariotipului, a fost testul cromatinei sexuale. În 1949, M. L. Barr şi E. G. Bertram (2) au observat în neuronii pisicilor femele o masă de cromatină în nucleu, Feulgen pozitivă, ataşată de membrana nucleară sau de nucleoli. S-a văzut că această masă de cromatină este prezentă şi la alte specii, inclusiv la om, şi de asemenea în alte ţesuturi, dar numai la femei nu şi la bărbaţi. Acest corpuscul este cunoscut sub denumirea de corpuscul Barr sau cromatină sexuală (fig. I, 18). În 1954, Davidson şi Smith descriu pe nucleii leucocitelor polinucleare la femei un apendice ca o măciucă sau „băţ de tobă", cu aceeaşi semnificaţie ca şi cea a corpusculului Barr (fig. I, 19). S-a pus la punct apoi o tehnică comodă de evidenţiere a sexcromatinei în celulele epiteliale bucale. Aceasta s-a dovedit foarte utilă în determinarea sexului genetic şi este larg aplicată în studiul tulburărilor dezvoltării sexuale la om. Natura sexcromatinei a fost subiectul multor ipoteze. S-a pus întrebarea dacă ea reprezintă mai mulţi cromozomi, unul singur sau numai o parte din el şi care anume. Deoarece cariologic femeia se caracterizează prin formula XX, iar bărbatul prin XY, pare verosimil să se atribuie prezenţa



Fig. I, 18. Nuclei cu cromatina sexuală pozitivă [*după R. R. Eggen* (12)].

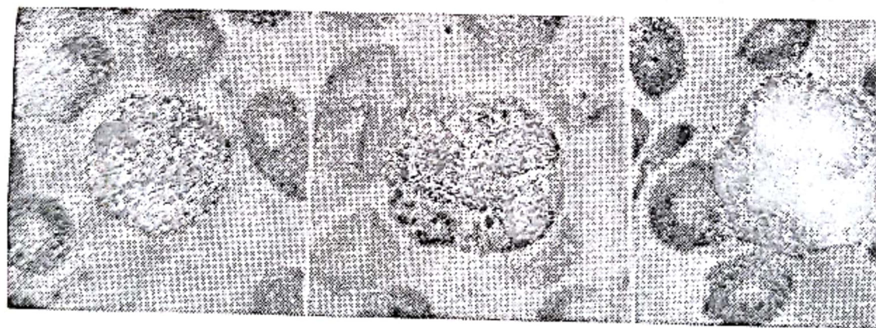


Fig. I, 19. Leucocite neutrofile cu apendici nucleari [*după R. R. Eggen* (12)].

sexcromatinei unui cromozom X. Ipoteza mai larg acceptată în privinţa originii sexcromatinei este cea emisă de M. F. Lyon (29), bazată în bună parte pe studiile lui Ohno, şi care susţine că acest corpuscul reprezintă un cromozom X foarte condensat în interfaza nucleilor somatici atît la om, cît şi la alte mamifere. La bărbat, unde X este singur, în celulele somatice şi spermatogonii el se comportă ca şi cînd ar fi compus numai din eucro-

matină, luînd un aspect de alungire extremă, astfel că nucleii acestor celule sînt negativi pentru sexcromatină. În celulele somatice femele, cei doi X se comportă diferit, unul rămîne fin și alungit, deci invizibil în interfază, celălalt se condensează, se heterocromatinizează, formînd sexcromatina. În general, numărul corpilor Barr este egal cu numărul cromozomilor X-1. Este exagerat să se afirme că testul sexcromatinei determină adevăratul sex genetic. Mai exact, el determină numărul cromozomilor X, de aceea nu se vorbește de frotiu masculin sau feminin, ci mai corect de sexcromatină pozitivă sau negativă.

APLICAREA CITOGENETICEI ÎN PRACTICA MEDICALĂ

Într-una din lucrările sale, citogeneticianul T. C. Hsu (21) afirmă că „luna de miere a citogeneticei s-a terminat", pentru că așa cum se întîmplă după orice debut glorios, au urmat și în acest domeniu dezamăgiri pentru unii cercetători care au sperat să găsească în citogenetică un răspuns la toate problemele puse de bolile ereditare. Există totuși premise care lasă să se întrevadă că ea va mai aduce contribuții valoroase în viitor. Pe lîngă aportul său fundamental în descifrarea mecanismelor intime ale eredității, citogenetica a devenit foarte utilă și pentru practica curentă. Există un număr de domenii în care tehnicile citogenetice sînt foarte necesare. Acestea sînt: **diagnosticul diferențial al malformațiilor congenitale**, „sfatul genetic" pentru părinții care au deja copii cu o anomalie ereditară, diagnosticul diferențial al intersexului, amenoreea primară, sterilitatea, diagnosticul diferențial al unor hemopatii, diagnosticul diferențial al disproteinemiilor, aplicațiile medico-legale, determinarea prenatală a sexului și altele a căror valoare clinică nu este încă precis stabilită. Pentru a înțelege mai bine utilitatea clinică a tehnicilor citogenetice vom face o foarte succintă trecere în revistă a cîtorva afecțiuni caracterizate prin aberații cromozomiale.

ANOMALII ALE CROMOZOMILOR SEXUALI

Dintre stările clinice mai importante asociate cu anomalii ale cromozomilor sexuali cităm: sindromul Turner, sindromul Klinefelter, femei cu X multiplu și hermafroditismul adevărat.

Sindromul Turner sau disgenezia gonadală survine la femei. Ele au formula cromozomială XO, deci numai 45 de cromozomi, și testul sexcromatinei negativ. Incidența sa este scăzută, aproximativ 0,4‰. Etiologia sa este nondisjuncția genetică mai frecvent în timpul gametogenezei masculine. Din punct de vedere clinic, femeile sînt amenoreice, mici de statură, organele genitale externe sînt hipoplazice și caracterele sexuale secundare subdezvoltate. Gonadele sînt absente sau reduse la o stromă de tip ovarian fără formațiuni foliculare. Aceste manifestări se mai însoțesc de modificări caracteristice ca gît palmat, *cubitus valgus*, implantarea joasă a părului la ceafă, defecte viscerale dintre care mai frecventă este coarctația aortei.

Sindromul Klinefelter întîlnit la bărbaţi este o disgenezie tubulară testiculară, cu sexcromatina pozitivă şi formula cromozomială XXY, deci un număr total de 47 de cromozomi. Este cea mai frecventă anomalie cromozomială, apărînd cu o frecvenţă de 1 la 700 de naşteri vii. Clinic, simptomele devin evidente la pubertate. Testiculele rămîn mici, cu azoospermie. Aspectul este eunucoid, cu ginecomastie şi uneori cu un grad uşor de deficit mintal. Pe lîngă formula cromozomială citată se mai întîlnesc şi formule ca XXXY, XXYY sau mozaicuri XXY/XX.

Femeile cu X multiplu au un cariotip cu 3 sau chiar 4 X sau mozaicuri, deci mai mult decît o masă de sexcromatină. Ele nu au modificări fenotipice consistente, pot avea tulburări menstruale şi lipsa caracterelor sexuale secundare, dar adesea aspect fenotipic normal. Cele mai multe sînt retardate intelectual, de aceea denumirea de „superfemele" împrumutată de la *Drosophila* nu este adecvată (21).

În **hermafroditismul adevărat la om,** cînd sînt prezente ambele gonade, cariotipul este în majoritatea cazurilor de tip XX, iar sexcromatina pozitivă. În cazurile pseudohermafrodite, sexul gonadal şi genetic sînt în acord şi numai organele genitale externe sînt diferite. Rezultă din aceste exemple utilitatea determinării sexcromatinei şi cariotipului în cazuri de anomalii ale organelor genitale, infertilitate, amenoree.

ABERAŢII ALE CROMOZOMILOR AUTOZOMI

Mongolismul sporadic, sindromul Langdon-Down sau trisomia 21 a fost prima boală în care s-a descris asocierea cu un defect cromozomial (28). Frecvenţa bolii este aproximativ de 1 la 800 naşteri vii. Există o corelaţie strînsă între vîrsta mamei şi incidenţa mongolismului, ceea ce sugerează că nondisjuncţia apare în cursul oogenezei. Manifestările clinice sînt binecunoscute, dar boala în special la nou-născut nu poate fi diagnosticată numai pe baza acestor criterii şi de aici necesitatea determinării cariotipului. Trăsăturile clinice cele mai frecvente sînt faciesul mongoloid cu plica epicantică şi nas turtit, retardare mintală, limba fisurată, plica palmară simiană caracteristică, defecte viscerale, mai ales cardiace. Spre deosebire de alte trisomii autozomale, mongolismul este compatibil cu dezvoltarea pînă la vîrsta adultă, ceea ce subliniază efectul de doză: cu cît cromozomul afectat este mai mare, cu atît deficienţele produse sînt mai severe. În afară de mongolismul sporadic trisomic există şi un mongolism familial, mai rar, în care aberaţia cromozomială este structurală şi anume translocaţie între cromozomul 21 şi unul din grupa D (13—15) sau G (21—22): D/G sau G/G. Un fapt care necesită să fie subliniat este asocierea dovedită statistic dintre mongolism şi leucoză. Această asociere sugerează că leucoza şi mongolismul sînt induse de acelaşi cromozom sau tulburarea cromozomială predispune la neoplazie sau că, ambele, anomalia cromozomială şi neoplazia reflectă o predispoziţie ereditară pentru o diviziune celulară anormală.

Sindromul trisomiei grupei D (13—15) (40) este foarte rar şi de o mare gravitate, încît copiii atinşi nu trăiesc peste vîrsta de 1 an. Anomaliile

mai frecvente sînt retardare mintală, surditate, defecte oculare, cardiace, buză de iepure, gură de lup, polidactilie, hemangioame multiple şi altele.

Trisomia grupei E (16—18) (11) se caracterizează prin deformaţii multiple, ca hipertonie, occipital proeminent, urechi malformate, mandibulă mică, degete flectate, diverticul Mekel, defecte cardiace, pancreatice şi renale. Cea mai lungă supravieţuire a fost de 23 de luni.

Dintre defectele cromozomilor autozomi mai merită să fie menţionate **aberaţiile cromozomiale din bolile hematologice.**

Anomalia cromozomială din *mieloleucoza cronică*, descrisă pentru prima dată în 1960 (38) constă din deleţia braţului lung al cromozomului 21, denumit de atunci Ph^1 sau cromozomul Philadelphia. Numeroase studii au arătat că prezenţa acestui cromozom este specifică pentru această boală, în care este prezent cu o frecvenţă de 90—95% (17, 18, 36). Anomalia se întîlneşte la bolnavii netrataţi şi este limitată la celulele măduvei osoase. Evidenţierea sa este foarte utilă pentru diagnosticul diferenţial faţă de metaplazia mieloidă.

La bolnavii cu *policitemia vera*, precum şi cu alte boli mieloproliferative a fost descris un extracromozom în grupa C (26, 27).

În *leucozele acute* s-au găsit numeroase tipuri de aberaţii cromozomiale, dar s-a constatat că ele nu sînt specifice. S-au descris cromozomi în plus sau în minus, aparţinînd mai frecvent grupelor C sau G. Aproximativ jumătate din cazurile de leucoză acută prezintă anomalii cromozomiale. Cromozomii anormali „marker" au fost descrişi şi în mielofibroză acută (33). În limfoleucoză cronică nu se găsesc modificări cromozomiale importante şi anomaliile descrise ar putea fi întîmplătoare.

Sînt interesante anomaliile numerice şi structurale constatate în *anemia pernicioasă* (25). Merită să fie menţionată monosomia G 21 observată în această boală şi care ar putea reprezenta o predispoziţie congenitală sau cîştigată la megaloblastoză. Prezenţa acestei anomalii şi în această boală subliniază rolul cheie pe care perechea 21 se pare că-l joacă în hematopoieză.

Numeroase publicaţii aduc dovezi despre existenţa anomaliilor cromozomiale în **gamapatii** (4, 15, 20, 27, 30). Atît în macroglobulinemie cît şi în mielomul multiplu s-au găsit cromozomi anormali în grupa A denumiţi cromozomi GM (gamapatie monoclonală) (20). În mielomul multiplu s-a mai descris un *marker* acrocentric asemănător cu cromozomii grupei D, precum şi numeroase alte anomalii nespecifice. Nu s-a putut face nici o asociere între anomalia citogenetică şi proteina anormală produsă.

În **neoplazii,** studiile citogenetice sînt aplicate de mulţi ani şi literatura în legătură cu acest domeniu este extrem de abundentă. În cele mai multe neoplazii s-au descris anomalii atît numerice, cît şi structurale, care sînt însă întîmplătoare şi neprevizibile. Se pare că aneuploidia tumorilor primare este mai puţin frapantă decît a metastazelor. Nu există totuşi corelaţie între aneuploidie şi activitatea biologică a tumorii. Se discută dacă aberaţiile cromozomiale sînt cauza transformării maligne sau consecinţa ei şi încă nu s-a dat un răspuns definitiv în această problemă. Oricare dintre factorii implicaţi în etiologia cancerului, virusuri, radiaţii, substanţe chimice, sînt capabili să producă aberaţii cromozomiale.

De un deosebit interes sînt observaţiile despre asocierea **bolilor cu componentă imunologică** cu aberaţiile cromozomiale (13, 53, 63). Există publicaţii despre asocierea tiroiditei Hashimoto cu sindromul Turner sau cu mongolismul. S-a raportat de asemenea corelarea disgeneziei gonadale cu colita ulceroasă. Prezenţa autoanticorpilor la persoane cu anomalii cromozomiale, precum şi la rudele acestora sugerează că autoanticorpii la părinţi ar putea cauza anomalii citogenetice la gameţi sau zigoţi. Pe de altă parte, anomaliile cromozomiale pot duce la o predispoziţie crescută pentru fenomene autoimune. Asocierea bolilor autoimune cu aberaţii cromozomiale trezeşte speranţa că în viitor, genele responsabile pentru sinteza imunoglobulinelor vor putea fi localizate pe anumiţi cromozomi.

Într-un timp relativ scurt, citogenetica a străbătut un drum lung şi a deschis numeroase perspective de cercetare. Este posibil ca o dată cu perfecţionarea tehnicilor să se realizeze noi progrese în legătură cu maparea cromozomilor, descifrarea structurii lor biochimice şi rolul lor în diversele procese biologice ale organismului uman.

BIBLIOGRAFIE

1. Arnold J. (citat de R. R. Eggen) — Chromosome Diagnostics in Clinical Medicine Ed. Ch. C. Thomas, Springfield, 1965.
2. Barr M. L., Bertram E. G. — *Nature (Lond.)*, 1949, 163, 676.
3. Bloom A. D., Neriishi S., Archer P. G. — *Lancet*, 1968, 2, 10.
4. Bottura C., Ferreri I., Veiga A. A. — *Lancet*, 1961, 1 1 170.
5. Chalmers J. N. M., Lawler S. D. — *Ann. Eugen (Lond.)*, 1953, 17, 267.
6. * * * Chicago Conference: Standardization in Human Cytogenetics, Ed. D. Bergsma J. L. Hamerton, H. P. Klinger, The National Foundation — March of Dimes, New York, 1966.
7. Chioreanu L., Wiener F. — *Stud. Cercet. Embriol.* (citat), 1968, 5, 2, 187
8. Cohen M. M., Hirschhorn K., Frosch W. A. — *New Engl. J. Med.*, 1967, 277, 20, 1 043.
9. Cohen M. N., Mukherjee A. B. — *Nature (Lond.)*, 1968, 219, 5 158, 1 072.
10. Davidson W. M. — *Proc. roy. Soc. Med.*, 1967, 60, 439.
11. Edwards J. H., Harnden D. G., Cameron A. H., Crosse V. M., Wolf O. H. — *Lancet*, 160, 1 787.
12. Eggen R. R. — Chromosome Diagnostics in Clinical Medicine, Ed. Ch. C. Thomas, Springfield, 1965.
13. Fialkow P. J. — *Lancet*, 1964, 1, 474.
14. Ford C. E., Hamerton J. L. — *Acta Genet. (Basel)*, 1956, 6, 264.
15. German J. L., Biro C. E., Bearn A. J. — *Lancet*, 1961, 2, 48.
16. German J. L., Walker M. E., Stiefel F. H., Allen F. H. Jr. — *Science*, 1968, 162, 1 014.
17. Goh Kong-O O, Swisher S. N. — *Ann. intern. Med.*, 1964, 61, 4, 609.
18. Goh Kong-O O — *Arch. intern. Med.*, 1968, 122, 241.
19. Heath C. W., Bennett J. M., Whang-Peng J. Berry E. W., Wiernick P. H. — *Blood*, 1969, 32, 3, 453.
20. Houston E. W., Ritzmann S. E., Lewin W. C. — *Blood*, 1967, 29, 2, 214.
21. Hsu T. C. — Genetic Cytology, in Cell and Tissues in Culture, vol. 1, Ed. E. N. Wilimer, Academic Press, Londra, 1965.
22. Hsu T. C., Arrighi F. E. — Chromosomes Anomalies and Chromosome Structure, in The Chromosome, Symposium, Miami, 1965.
23. Iacobs P. A., Strong J. A. — *Nature (Lond.)*, 1959, 183, 302.
24. Kato H., Sandberg A. A. — *J. nat. Cancer. Inst.*, 1968, 41, 5, 1 117.
25. Kiossoglou K. A., Mitus W. J., Dameshek W. — *Blood*, 1965, 25, 5, 662.

26. Kiossoglou K. A., Mitus W. J., Dameshek W. — *Blood*, 1966, 28, 241.
27. Lawler S. D. — Plenary Session Papers, XII Congress, Intern. Soc. Hemat., New York, 1968.
28. Lejeune J., Gauthier M., Turpin R. — *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 1959, 248, 1 721.
29. Lyon M. F. — *Amer. J. hum. Genet.*, 1962, 14, 135.
30. Mancinelli S., Durant J. R., Hammack W. J. — *Blood*, 1969, 2, 225.
31. Mellander Y. (citat de R. Turpin, J. Lejeune) — Les chromosomes humains, Ed. Gauthier-Willars, Paris, 1965.
32. Milcu Şt. M., Maximilian C. — Genetică umană, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1966.
33. Mitus W. J., Coleman N., Kiossoglou K. A. — *Arch. intern. Med.*, 1969, 123, 193.
34. Nichols W. W., Levan A., Hall B., Östergren G. — *Hereditas (Lund)*, 1962, 48, 367.
35. Nichols W. W. — *Hereditas (Lund)*, 1965, 54, 101.
36. Nicolau C. T., Nicoară St. — *Med. internă (Buc.)*, 1964, 16, 10, 1 153.
37. Nielsen J., Friedrich U., Tsuboi T. — *Brit. med. J.*, 1969, 3, 634.
38. Nowell P. C., Hungerford D. A. — *Science*, 1960, 132, 1 497.
39. Painter T. S. (citat de R. Turpin, J. Lejeune) — Les chromosomes humains, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.
40. Patau K., Smith D. W., Therman E., Inhorn S. L., Wagner A. — *Lancet*, 1960, 1, 790.
41. Patau K. — *Lancet*, 1961, 2, 600.
42. Patau K. — Indentification of Chromosomes, Human Chromosome Methodology, Ed. J. J. Yunis, Academic Press, New York, 1965.
43. Preda V. — Determinarea şi diferenţierea sexuală la vertebrate, Ed. Acad. R. S. România, Bucureşti, 1968.
44. Rap F., Hsu T. C. — *Virology*, 1965, 25, 3, 401.
45. Renwick J. H., Lawler S. D. — *Ann. hum. Genet.*, 1955, 10, 312.
46. Renwick J. H., Lawler S. D. — *Ann. hum. Genet.*, 1963, 27, 67.
47. Robson E. B., Sutherland I., Harris H. — *Ann. hum. Genet.*, 1966, 29, 325.
48. Robson E. B., Polani P. E., Dart S. J., Jacobs P. A., Renwick J. H. — *Nature (Lond.)*, 1969, 223, 5 211.
49. Sanger R., Race R. R. — *Heredity*, 1958, 12, 512
50. Sergovich F., Valentine G. H., Chen A. T. L., Kinch R. A. H., Smout M. S. — *New Engl. J. Med.*, 1969, 280, 851.
51. Schmid W. — Autoradiography of Human Chromosomes in Human Chromosome Methodology, Ed. J. J. Yunis, Academic Press, New York, 1965.
52. Smith D. W., Focter J. M., Ferrier P. E., Frias J. L., Spock A. — *Lancet*, 1968, 2, 309.
53. Sparkes R. S., Motulsky A. G. — *Ann. intern. Med.*, 1967, 67, 1, 132.
54. Stahl F. (citat de H. Swift) — The Chromosome, Symposium, Miami, 1965.
55. Steele M. W. — *Nature (Lond.)*, 1969, 221.
56. Stich H. F., Hsu T. C., Rapp F. — *Virology*, 1964, 22, 439.
57. Stich H. F., Van Hoosier G. L., Trentin J. J. — *Exp. Cell. Res.*, 1964, 34, 400.
58. Swift H. — The Chromosome, Simposium, Miami, 1965.
59. Tjio J. H., Levan A. — *Hereditas (Lund.)*, 1956, 421.
60. Turpin R., Lejeune J. — Les chromosomes humains, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.
61. Uchida I. A., Holunga R., Lawler C. — *Lancet*, 1968, 2, 1 045.
62. Watson J. D. — Molecular Biology of the Gene, Ed. W. A. Benjamin, New York, 1965.
63. Williams E. D., Engel E., Taft P. D., Forbes A. P. — *J. Med. Genet.*, 1966, 3, 51.
64. Winiwarter H. (citat de R. Turpin, J. Lejeune) — Les chromosomes humains, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.

Capitolul al II-lea

APLICAREA PRINCIPIILOR BIOLOGIEI MOLECULARE ÎN PATOLOGIA UMANĂ

I. Manta și Gh. Jebeleanu

I. INTRODUCERE

Acceptînd că domeniul biologiei moleculare este ansamblul de cunoștințe care permite explicarea fenomenelor biologice esențiale în termenii interacțiunii între structuri moleculare, putem împărți schematic fenomenele patologice în două grupe mari:

1. În *prima grupă* se încadrează acele cazuri în care, deși „instrumentele activităților biologice elementare", respectiv proteinele, păstrează o structură obișnuită „normală", factorii prezenți la un moment dat împiedică validarea activității lor. Între acestea, cele mai caracteristice sînt diversele tipuri de inhibiție competitivă (cu substratul sau cu coenzima) și necompetitivă a enzimelor.

Tot în această grupă se încadrează biosinteza în cantitate insuficientă a proteinelor (enzimelor), ca urmare a lipsei „unităților de construcție", respectiv a aminoacizilor, lipsei coenzimelor naturale sau epuizării resurselor energetice. Parțial, aceste două prime subgrupe s-ar încadra sub termenul de „leziune biochimică", așa cum a fost introdus de Peters (54) cu ocazia prezentării inhibiției ciclului tricarboxilic prin acid fluoracetic și prin lipsă de vitamina B_1. O ultimă subgrupă ar cuprinde dereglarea activității diverselor enzime, ca o consecință a modificării arhitecturii moleculare a organitelor celulare (dependentă la rîndul ei de o serie de factori fizici și chimici).

Ca o caracteristică generală a acestei grupe este reversibilitatea, chiar în anumite limite ale fenomenelor, cu alte cuvinte posibilitatea sintezei proteinelor respective (enzimelor) cu o structură „normală" și în cantitățile necesare, îndată ce factorii care interferează au fost îndepărtați.

În prezent se acumulează într-un ritm din ce în ce mai rapid tot mai multe date de genul celor descrise mai sus pentru diversele entități în patologia umană.

Deoarece scopul nostru nu este o trecere în revistă, aspectele conceptuale necesare interpretării fenomenelor din această primă grupă fiind în parte

prezentate și făcînd parte din cunoștințele devenite de mult timp clasice în biochimia medicală, în cele ce urmează nu ne ocupăm de acest gen de cunoștințe decît ocazional.

2. În cea *de-a doua grupă*, asupra căreia ne-am propus o privire mai detaliată, intră acele afecțiuni în care lipsa unei activități enzimatice se datorează unei structuri alterate sau unei lipse de sinteză condiționată genetic (1, 28, 49, 58).

Este evident că privită astfel patologia moleculară formează o unitate. Există numeroase exemple în care enzima sau proteina, a cărei structură este modificată din cauze genetice, reușește totuși să îndeplinească satisfăcător activitatea caracteristică în condiții obișnuite. Prin modificarea condițiilor, însă, enzima afectată se poate să nu mai aibă aceeași eficacitate ca cea normală. Este cazul sensibilității la succinilcolină în cazul unei variante de pseudocolinesterază serică sau la anumite medicamente antimalarice (Primaquin) pentru indivizii în a căror globule roșii glucozo-6-fosfatdehidrogenaza obișnuită este înlocuită de o variantă mai puțin eficientă. De multe ori, aceiași factori, acționînd prelungit sau cu intensitate mai mare, pot să producă un tablou similar chiar în prezența unei enzime normale. De exemplu, diversele substanțe oxidante capabile să ducă la methemoglobinemie vor afecta atît indivizii normali, cît și pe cei sensibili (prin lipsă de sisteme reducătoare sau prin modificări structurale ale hemoglobinei), dar evident, cantitatea necesară într-un caz și în celălalt va fi mult diferită. În felul acesta atingem o altă problemă, aceea a individualității biochimice, adică a răspunsului particular pentru fiecare individ la aceiași factori. Acest aspect va forma subiectul unui alt capitol. Am dori în cele ce urmează să subliniem faptul că patologia moleculară este un domeniu al biologiei moleculare unde se aplică aceleași principii fundamentale. O bună parte din dovezile aduse în decursul timpului pentru aceste pricipii provin tocmai din datele furnizate de patologia moleculară. În sfîrșit, multe din problemele nerezolvate ale patologiei promit să contribuie la descoperirea unor aspecte fundamentale sau la completarea celor vechi.

Revenind la clasificarea de mai sus reamintim că ceea ce caracterizează afecțiunile încadrate în grupa a doua este condiționarea genetică a uneia (sau mai multor) deficiențe enzimatice (sau a altui tip de activitate biologică a proteinelor).

II. CONCEPTUL „O GENĂ — O ENZIMĂ" ȘI „ERORILE ÎNNĂSCUTE ALE METABOLISMULUI"

La sfîrșitul secolului al XIX-lea devenise larg acceptată printre geneticieni ideea că ceea ce se moștenește ereditar este, în ultimă instanță, un anumit tip de metabolism. Nu se știa nici prin ce substanțe se realizează această transmisie și nici cum se ajunge la validarea modelului metabolic parental la descendenți. Dacă prima din aceste precizări a trebuit să aștepte experiențele de transformare prin ADN a lui Avery și colab. (3), cea de-a doua a

devenit suficient de clară prin interpretarea dată în 1908 de medicul englez A. E. Garrod cîtorva boli ereditare, rar întîlnite la om (21).

Ceea ce studia A. E. Garrod era metabolismul diverselor substanțe la bolnavii suferinzi de boli ereditare. Pentru una din aceste boli, *alcaptonuria*, se putuse evidenția că bolnavii excretau prin urină în cantități mari un compus care în contact cu aerul se înnegrea, acidul 2,5-dihidroxifenilacetic sau alcaptonul. Acest compus era cunoscut ca o treaptă intermediară în lanțul de reacții prin care este catabolizată fenilalanina și tirozina. În 1902, Bateson arătase că boala se transmite după legile lui Mendel și este recesivă la heterozigoți (cit. 38). A. E. Garrod a interpretat aceste fapte ca o lipsă a activității enzimei care catalizează transformarea mai departe a alcaptonului, lipsă condiționată genetic. Totodată a creat termenul de „erori congenitale de metabolism" pentru acest gen de afecțiuni, prevăzînd descoperirea unor situații similare în alte entități studiate de el. Dezvoltarea acestor idei și dovezile culese au fost înmănunchiate de A. E. Garrod într-o carte purtînd titlul de *„Inborn Errors in Metabolism"*. Înainte de apariția celei de-a doua ediții a acestei cărți (1923), în 1914, chimistul german O. Gross (26) a arătat că serul bolnavilor de alcaptonurie nu conține enzima care oxidează acidul 2,5-dihidroxifenilacetic prezentă în serul indivizilor normali. Cu această dovadă experimentală se pare că pînă la formularea conceptului „o genă = o enzimă" nu mai era decît un pas. Totuși, raritatea cazurilor, insuficiența mijloacelor de investigație și, probabil, lipsa de înțelegere a semnificației generale a acestor afecțiuni la om a dus la o întîrziere de aproximativ 30 de ani în formularea conceptului amintit (cit. 61).

„O genă = o enzimă" a devenit clar abia după lucrările lui. B. Ephrussi (17) asupra transmiterii ereditare a colorantului ochilor de la *Drosophila*, dar mai ales după lucrările lui G. W. Beadle și E. L. Tatum (6) asupra genelor care controlează metabolismul metioninei la ciuperca *Neurospora*. Tot în această perioadă se numără și o serie de lucrări ale lui Bonner, Lindergren, Horovitz și Erb pentru diverse gene de *Neurospora* (cit. 5) care controlează prezența anumitor etape din metabolismul diverselor substanțe. Prin aceste lucrări se stabilea o corespondență evidentă între genă și o enzimă, prezența unei anumite etape fiind condiționată de prezența unei anumite gene nealterate.

Acest început a fost urmat la scurt timp de obținerea de numeroși mutanți pe diverse microorganisme, în care era blocată o etapă sau alta din diversele metabolisme. Acești mutanți puteau fi deosebiți prin aceea că pretindeau prezența în mediul de creștere a substanței ce nu putea fi sintetizată, datorită blocajului metabolic, sau prin acumularea de precursori ai etapei blocate. În consecință, pe lîngă seviciile aduse de studiul acestor mutanți geneticii biochimice, ei au fost deosebit de utili în descifrarea soartei anumitor substanțe în procesele metabolice.

Similar au fost evidențiate, pe măsura acumulării cunoștințelor de biochimie și a disponibilităților metodologice, din ce în ce mai multe boli cu transmisie genetică, a căror caracteristică esențială era blocarea a cîte unei etape din lanțurile de transformări ce au loc în organismul uman. Numărul diverselor entități evidențiate astfel se ridică la aproape 150 și este în con-

tinuă creştere (cit. 58). Blocările evidenţiate vizează aproape totalitatea căilor metabolice cunoscute.

După cum era de aşteptat, nu s-au evidenţiat boli în care să fie blocată vreo etapă din căile vitale de metabolism, de exemplu glicoliza, ciclul acizilor tricarboxilici, fosforilarea oxidativă, şi este foarte probabil că asemenea blocări nici nu sînt compatibile cu viaţa.

Caracterizarea bolilor ereditare de metabolism începe de obicei cu evidenţierea acumulării unui metabolit sau a lipsei unui produs important pentru organism. Destul de multe din entităţile descrise se găsesc încă în această fază de cunoaştere. Pasul imediat următor este evidenţierea activităţii enzimatice deficitare ca un caracter care se transmite la descendenţi. O dată aceasta stabilită, boala poate fi încadrată definitiv între „erorile înnăscute de metabolism". Desigur cunoaşterea bolii merge mai departe, dar din motive care vor reieşi mai tîrziu ne oprim deocamdată aici, unde, de altfel, se opresc cunoştinţele noastre asupra majorităţii bolilor înnăscute de metabolism. Cele afirmate le exemplificăm prin două figuri: prima figură schematizează catabolismul fenilalaninei şi tirozinei în ficatul de om, cu diversele blocări metabolice evidenţiate în anumite boli înnăscute de metabolism (cit. 30, 36, 38). Această schemă a devenit un exemplu clasic şi este prezentată sub o formă mereu mai completă, începînd de la Garrod (fig. II, 1).

Fenilalanina este hidroxilată de o enzimă în tirozină, aceasta printr-un proces de transaminare enzimatică trece în acid p-hidroxifenilpiruvic. Acidul p-hidroxifenilpiruvic este oxidat de o oxidază specifică în acid 2,5-dihidroxifenilpiruvic (acidul homogentizinic sau alcaptonul). Prin acţiunea unei oxidaze asupra celei din urmă, ciclul benzenic este desfăcut, rezultatul fiind acidul maleilacetoacetic izomerizat ulterior de maleilacetoaceticizomerază în acid fumarilacetoacetic. Ultimul este desfăcut de o hidrolază în acid acetoacetic şi acid fumaric. Din această cale principală se desprind cîteva căi derivate, în parte figurate şi în schema prezentată. Astfel, de la fenilalanină există o derivare, datorită unei transaminaze, spre acid fenilpiruvic şi mai departe la acid fenillactic, fenilacetic şi fenilacetilglutamină. De la tirozină porneşte procesul de sinteză a melaninei prin intervenţia tirozinazei, care hidroxilează tirozina în dioxifenilalanină (DOPA) şi DOPA-chinonă, de unde prin cîteva etape intermediare se ajunge la melanină (alte procese care pornesc de la tirozină, cum ar fi biosinteza tiroxinei şi a adrenalinei, nu sînt luate în discuţie în schema de faţă). Blocajul notat cu *A* reprezintă eroarea înnăscută de metabolism în fenilcetonurie (oligofrenie fenilpiruvică). Boala a fost descrisă prima dată de Fölling, în 1934, ca o afecţiune cu deficit mintal, în care bolnavii excretau cantităţi mari de acid fenilpiruvic (20). G. A. Jervis a arătat apoi că boala se transmite cu un caracter autosomal recesiv (1939) (cit. 36). Tot G. A. Jervis (34) a fost cel care a indicat etapa blocată din metabolism, pentru ca apoi, în 1935, să pună în evidenţă lipsa de activitate fenilalaninhidroxilazică în ficatul bolnavilor. Lipsa activităţii acestei enzime explică devierea metabolică pe o cale secundară, pornind de la fenilalanină. Este prima boală la care au putut fi demonstrate prezicerile făcute de Garrod.

Pentru blocajul *B*, situaţia este mai puţin clară. El a fost presupus de către G. Mendes şi colab. (43) ca existent la bolnavii de tirozinoză, o boală

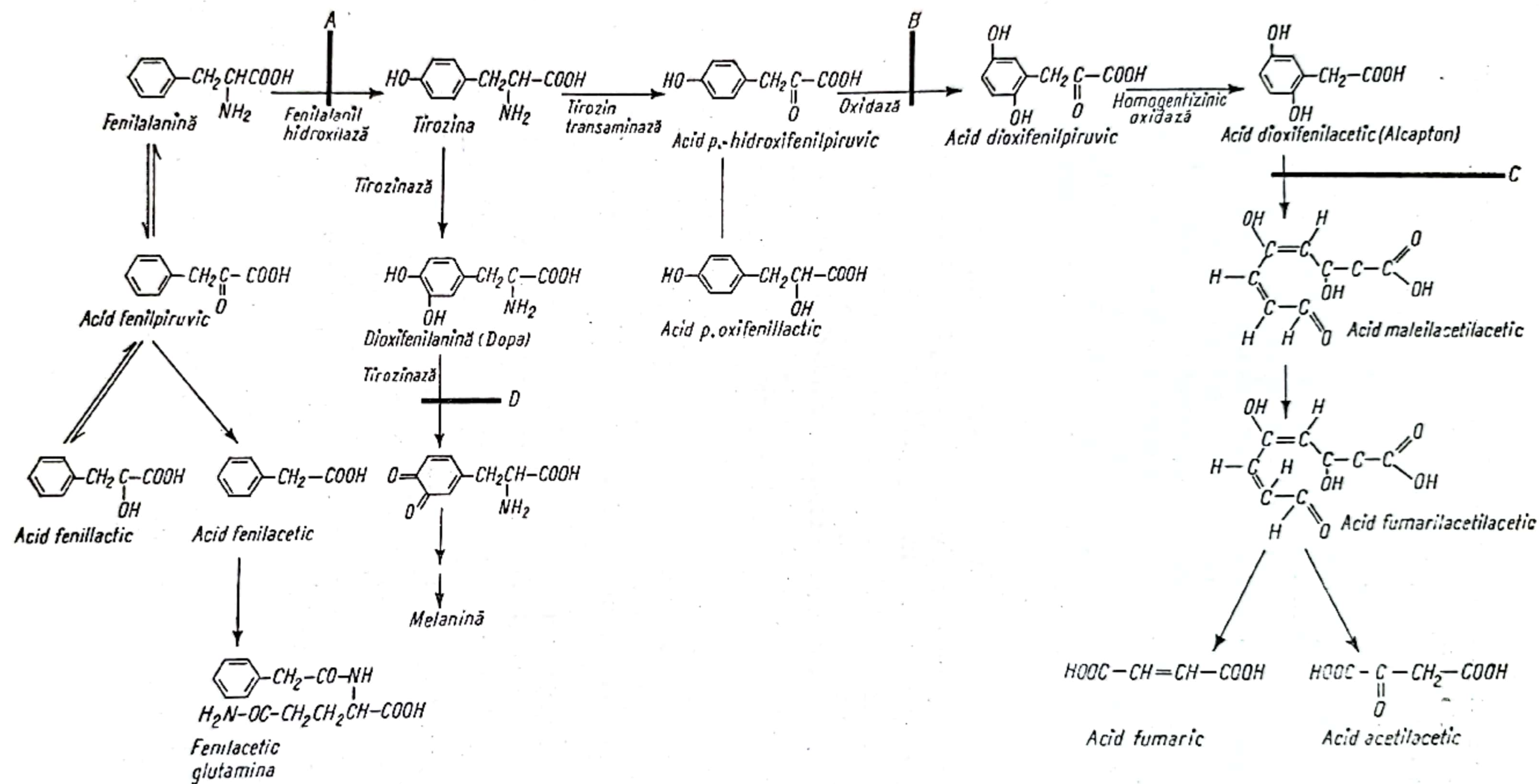


Fig. II, 1. Blocările metabolice ereditare din lanțul de catabolism al fenilalaninei.

în care bolnavii excretă cantități mari de acid p-hidroxifenilpiruvic. Există însă îndoieli mai ales că deficitul enzimatic nu a fost evidențiat prin dozări biochimice în ficatul bolnavilor. Acidul p-hidroxifenilpiruvic ar putea proveni și din alte căi metabolice. S-ar părea însă că acest tip de blocaj există într-o altă boală, *tirozinemia*, descrisă de J. Gentz (22), în care pe lîngă defecte multiple în reabsorbția tubulară renală a diverselor substanțe, hepatomegalie cu ciroză nodulară și rahitism vitamino-D-rezistent, se găsește constant un nivel crescut al tirozinei, acidului p-hidroxifenilpiruvic și p-hidroxifenillactic (derivat din primul) în sînge și urină. Activitatea enzimei, p-hidroxifenilpiruvic-acid-oxidază, a fost găsită absentă în ficatul acestor bolnavi (cit. 39).

Pentru blocajul *C*, găsit în alcaptonurie, am amintit deja suficiente lucrări. Ar mai fi de adăugat că această boală se cunoaște de mult, probabil din antichitate, datorită îmbrunirii urinii în contact cu aerul, deficitul în activitatea acidhomogentizinicoxidazei putînd fi demonstrat în ficatul și rinichii bolnavilor (cit. 38).

În sfîrșit, blocajul notat cu *D* ar putea să se găsească în albinism, ca o consecință a deficienței în activitatea tirozinazei (19).

În figura următoare sînt schematizate căile metabolismului care duc la biosinteza celor trei clase mari de hormoni steroizi (glucomineralo și masculini) în corticosuprarenala umană, împreună cu o serie de blocări metabolice evidențiate în ultimul deceniu la bolnavii cu diverse variante ale sindromului adrenogenital, congenital (59) (fig. II, 2).

Fără a intra în detalii biochimice, se poate observa în schemă că pornind de la un compus derivat din colesterol (încă necunoscut), în corticosuprarenală se formează pregnenolonă și dehidroepiandrosteronă. De la pregnenolonă, prin mai multe etape intermediare, în care intervin în ordine 3β-dehidrogenaze, 21-steroidhidroxilaze și 11β-steroidhidroxilaze, pe lîngă alte enzime, se ajunge la compușii mineralocorticoizi (dezoxicorticosterona, dezoxicortizolul și aldosterona) și glucocorticoizi (cortizona, cortizolul, corticosterona, compușii cu C 21). De la dehidroepiandrosteronă prin cîteva etape, în una în care intervin și trei steroiddehidrogenaze, se ajunge la hormonii masculini ai corticosuprarenalei, respectiv androsteronă (compuși cu C 19).

Blocarea cea mai frecvent întîlnită este cea datorită activității deficitare a 21-steroidhidroxilazelor. Această blocare a fost la început evidențiată prin eliminarea de compuși de catabolism ai steroizilor care se găsesc înaintea etapei blocate (în special pregnantriol) în urina bolnavilor cu sindrom adrenogenital (G. F. Marrian, 1935) (9). A urmat apoi evidențierea lipsei din urina acestor bolnavi a steroizilor cu o grupare — OH în C 21 (C. J. Migeon și L. I. Gardner, 1951) (44), demonstrarea acumulării de precursori ai corticosteroizilor hidroxilați în C 21 (în special 17-hidroxiprogesteron) (A. M. Bongiovanni, 1958) (12) și lipsa steroizilor C 21 hidroxilați în glandele suprarenale ale acestor bolnavi (16). În sfîrșit, s-a dozat activitatea 21-steroidhidroxilazelor, observîndu-se o marcată lipsă de activitate. Se pare că lipsa de activitate a acestor enzime nu este chiar absolută, putînd fi sintetizate mici cantități de hormoni. Nivelul scăzut al hidrocortizonului face ca ACTH să fie secretat în exces, de unde hiperplazia glandelor suprarenale și producerea crescută de hormoni masculinizați care explică virilismul. Lipsa de sinteză a hor-

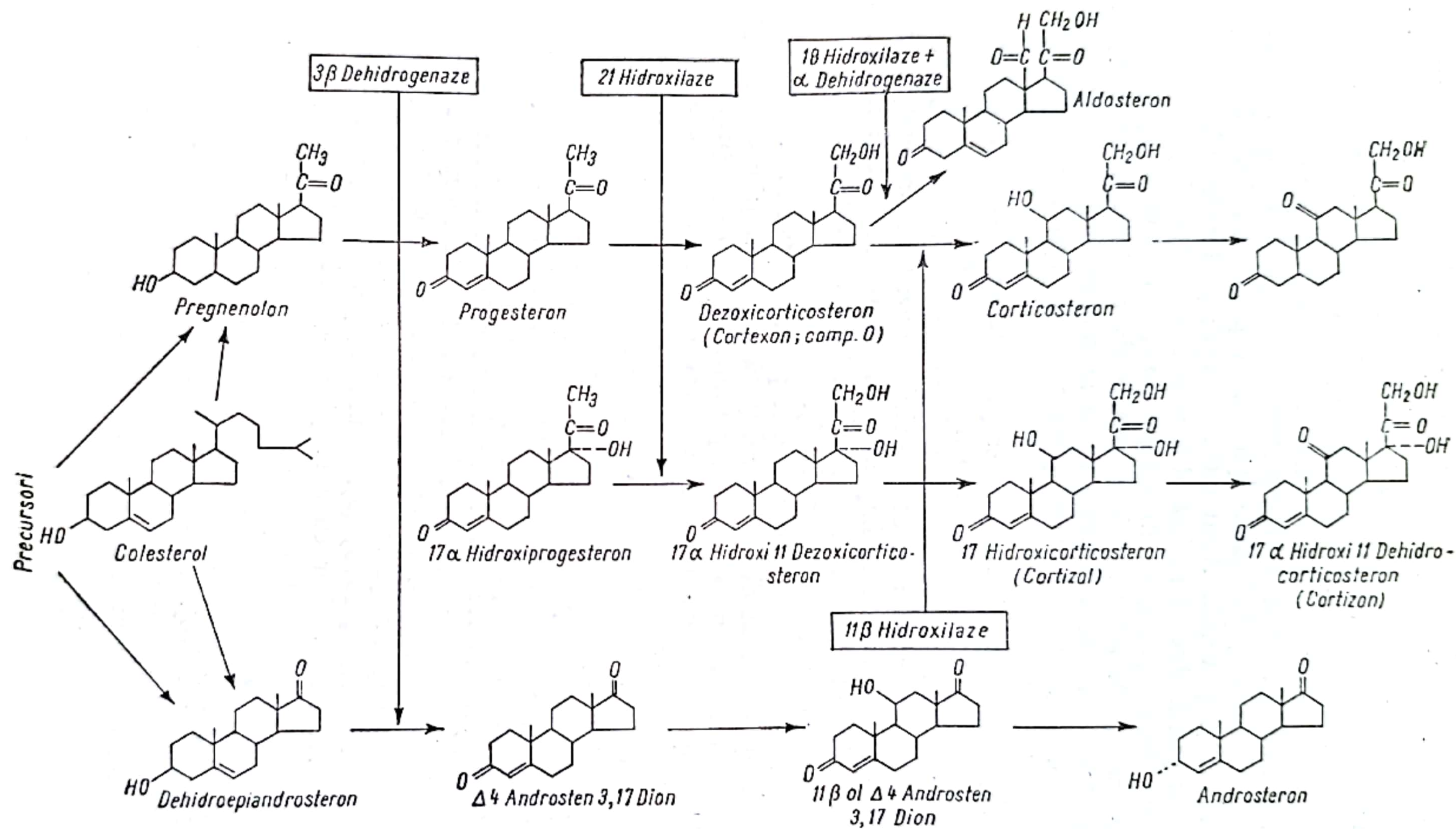


Fig. II, 2. Căile biosintezei hormonilor steroizi în corticosuprarenală şi erorile înnăscute ale metabolismului descoperite pînă în prezent.

monilor mineralocorticoizi duce la pierderea de sare observată în multe din cazurile de sindrom adrenogenital. Similar a fost evidenţiat un blocaj metabolic la nivelul 11-steroidhidroxilazelor, ceea ce duce la lipsa de sinteză a glucocorticoizilor cu secreţie crescută de ACTH, consecutiv la hiperplazia glandei corticosuprarenale, la secreţia crescută de mineral-corticoizi şi hormoni androgeni. În aceste cazuri, bolnavii prezintă o hipertensiune marcată, datorată excesului de dezoxicorticosteronă. Ei elimină prin urină, în cantităţi mari produşii de catabolism ai steroizilor suprarenali (care nu sînt hidroxilaţi în C 11) şi de loc 11-OH, 17-cetosteroizi. Ultima etapă blocată prezentată în schemă este cea a 3β-steroiddehidrogenazelor, care a fost evidenţiată într-o formă gravă a sindromului adrenogenital (A. M. Bongiovanni, 1961) (15). Bolnavii elimină cantităţi mari de Δ_5, 3 β-hidroxisteroizi, dar care nu provin din catabolismul normal al corticosteroizilor. Dovada finală a fost adusă de A. S. Goldman şi colab. în 1964, care au reuşit să demonstreze histo- şi biochimic lipsa de activitate a 3β-steroiddehidrogenazelor (25, cit. 40).

Aceste exemple au fost date cu intenţia de a prezenta modul de urmărire a unei deficienţe metabolice înnăscute. Ceea ce pare comun pentru toate afecţiunile descrise este faptul că nu putem preciza cum anume se ajunge din cauze genetice la o activitate enzimatică deficitară. După cum vom vedea, răspunsul la această întrebare poate fi diferit.

III. CONCEPTUL DE „UN CISTRON — O POLIPEPTIDĂ" ŞI CEL DE „BOALĂ MOLECULARĂ"

Cu aproximativ două decenii în urmă, genetica moleculară se găsea în faţa aceleiaşi dileme şi anume, în ce fel se condiţionează genetic activitatea unei enzime.

A trebuit mai întîi să devină clar că o anumită activitate biologică a unei proteine se datorează unei secvenţe de aminoacizi a acesteia. Acest lucru a putut fi dedus abia după lucrările lui Sanger, care a stabilit secvenţa insulinei.

Aproximativ în acelaşi timp, L. Pauling şi colab. (50), într-o lucrare care reprezintă o piatră de boltă în biologia moleculară, a indicat că ceea ce se transmite ereditar în anemia falciformă este o structură modificată a hemoglobinei. Acest lucru este dovedit de migrarea electroforetică diferită a hemoglobinei anormale, numită Hb. S (de la *sickle-cell anemia)* faţă de cea obişnuită, Hb. A. Cu această ocazie, L. Pauling a creat termenul de „boală moleculară", definit mai tîrziu ca o boală datorită alterării activităţii unei proteine ca urmare a modificării structurii sale din cauze genetice.

Introducerea unei metode noi, aşa-numita tehnică a amprentelor digitale[1], de către V. M. Ingram (31), a dat posibilitatea evidenţierii faptului că hemo-

[1] Metoda amprentelor digitale a lui V. M. Ingram este de fapt o cromatografie pe hîrtie, urmată de o electroforeză la 90° faţă de prima operaţie, a peptidelor rezultate din hidroliza cu tripsină a proteinei (respectiv hemoglobinei) denaturate. Se obţine după relevare o distribuţie caracterstică a petelor, o hartă care poate fi comparată cu distribuţia în cazul proteinei normale.

globina S diferă de cea normală prin înlocuirea acidului glutamic cu valină într-un anumit loc din moleculă. Corelînd această descoperire cu cunoştinţele anterioare se putea spune că transmiterea ereditară a unei proteine cu activitate biologică alterată se explică prin transmiterea ereditară a unei secvenţe de aminocizi modificată faţă de cea obişnuită.

Ceva mai tîrziu s-a stabilit, prin lucrările lui Fraenkel-Conrat de urmărire a modificărilor în secvenţa proteinei de înveliş la V.M.T. (virusul mozaicului tutunului), consecutive tratării cu HNO_2 a acizilor nucleici extraşi din virus, că în mod cert modificarea secvenţei aminoacizilor în proteine se datoreşte unei alterări a structurii materialului genetic (cit. 63).

Totodată prin numeroase lucrări s-a stabilit că molecula hemoglobinei nu este formată dintr-un lanţ polipeptidic unic, ci din patru, două cîte două identice. Înlocuirea acidului glutamic cu valina amintită mai sus pentru Hb. S se limita de fapt la o anumită poziţie din lanţurile de tip β, cele de tip α, fiind identice cu cele din Hb. A (cit. 27, 32).

Prin urmare, dacă unei anumite gene îi corespunde o anumită secvenţă de aminoacizi, hemoglobinei trebuia să-i corespundă de fapt două „gene", cîte una pentru fiecare din cele două tipuri de lanţuri polipeptidice din molecula tetramer. Două regiuni genetice trebuia să corespundă de asemenea şi pentru o enzimă studiată de Yanofsky la *Esch. coli* şi *Neurospora,* triptofansintetaza (68).

Aceste date se corelau foarte bine cu cele obţinute de S. Benzer (7) prin analiza genetică a mutanţilor bacteriofagului T 4 pentru gena rII. El demonstrase că această genă are două regiuni, independente ca transmisie genetic, dar ambele necesare pentru exprimarea caracterului controlat de gena rII. Asemenea regiuni au fost denumite *cistron.* Similar, mutaţiile care afectau secvenţa de aminoacizi în una din subunităţile triptofansintetazei se transmiteau la descendenţi, după recombinare, independent de mutaţiile care afectau secvenţa în cea de-a doua.

S-a dedus în mod logic că fiecare cistron specifică secvenţa de aminoacizi pentru un anumit tip de lanţ polipeptidic, gena unei proteine (înţeleasă ca unitate de transmisie ereditară a unui caracter ereditar elementar) fiind formată din tot atîţia cistroni cîte tipuri de lanţuri polipeptidice intră în alcătuirea unei molecule din proteina respectivă. De aici formularea „un cistron — o polipetidă".

Aplicarea acestui principiu a putut fi făcută după un timp mult mai riguros, cunoscîndu-se sistemul de codificare a secvenţei aminoacizilor în acizii nucleici, respectiv corespondenta succesiune de codoni în ADN — succesiune de aminoacizi în lanţurile polipeptidice.

În lumina acestor date a devenit clar faptul că lipsa unei activităţi enzimatice oarecare nu înseamnă neapărat o lipsă de sinteză a proteinei respective. Se poate foarte bine ca datorită unei mutaţii, proteinele care rezultă să aibă o structură astfel modificată încît să nu mai permită o activitate enzimatică sau să o prezinte cu o eficienţă foarte mică. Izolarea unei enzime cu structura modificată genetic este, în cazul special al erorilor înnăscute ale metabolismului la om, o problemă dificil de realizat din numeroase motive.

Mult mai bine stau lucrurile însă pentru diversele variante de hemoglobină, a căror izolare a început prin lucrările lui L. Pauling și V. M. Ingram, amintite mai sus. Hemoglobina este, din punctul de vedere al activității, greu de separat de caracteristicile enzimelor. Ea a și fost denumită „enzimă onorifică". Fiind ușor de izolat, se cunoaște astăzi nu numai secvența de aminoacizi pentru lanțurile α și β, datorită lucrărilor lui M. F. Perutz, dar și structura sa spațială. Sînt cunoscute de asemenea secvențele de aminoacizi în lanțurile δ și γ, care înlocuiesc pe cele de tip β în hemoglobina fetală F și în hemoglobina minoră normală A_2.

La începutul anului 1969 erau caracterizate mai mult de 100 de diverse hemoglobine (cit. 49, 52, 57). Precizarea este poate necesară, căci descrierea unor variante noi de hemoglobină se petrece la un interval uimitor de scurt. Dintre aceste variante, 35 sînt pentru lanțul α, aproximativ 58 pentru β, 4 pentru γ și 5 pentru lanțurile de tip δ. Majoritatea dintre aceste variante, similare cu Hb. S, constau în înlocuirea în secvența unuia din tipurile de lanțuri a aminoacidului, găsit în mod normal, cu un alt tip de aminoacid. S-au descris în ultimul timp însă și variante în care alterarea genetică a secvenței nu urmează această „regulă". Este vorba, pur și simplu de lipsa unei porțiuni din secvența de aminoacizi normală, ceea ce în termeni genetici se indică sub numele de deleție. Așa este Hb. Freiburg în care lipsește valina 23 din lanțurile β și Hb. Gun Hill în care lipsesc nu mai puțin de cinci aminoacizi între pozițiile 91 și 97 ale lanțurilor γ.

Trebuie specificat faptul că dintre aceste hemoglobine doar aproximativ o treime sînt cauzatoare de boli moleculare.

Reușind să construiască un model al hemoglobinei, pe baza datelor obținute prin studii cristalografice cu raze Röntgen la rezoluție de 2,8 Å, Perutz M. F. și colab. (53) au urmărit apoi pe acest model rezultatul diverselor modificări de secvență în variantele de hemoglobine cunoscute. În felul acesta au fost indicate modificările de structură spațială și în bună parte s-au putut corela aceste modificări cu proprietățile fizico-chimice și semnificația lor patologică. Se poate astăzi înțelege de ce o înlocuire de aminoacizi are în unele cazuri consecințe asupra activității și în altele nu (52).

Astfel se știa că hemul este factorul principal care asigură stabilitatea structurii fiecărui lanț polipeptidic din molecula tetramer a hemoglobinei. Reamintim că în esență, fiecare lanț, indiferent de tip (α β, γ, sau δ), are 8 regiuni helicoidale notate cu A, B, C etc. pînă la H și 7 regiuni nehelicoidale, „bucle" sau „coturi", situate între regiunile helicoidale notate cu AB, BC, CD etc. Indiferent de felul lanțului, resturile laterale ale aminoacizilor care privesc spre interiorul cavității delimitate de cele 15 regiuni sînt apolare. Hemul se găsește într-o cavitate, „buzunarul hemului". El este ancorat printr-o legătură coordonativă între fierul său și o histidină din regiunea F (His F 8), histidina proximală, și prin 60 de interacțiuni cu diverse resturi laterale, în mare parte polare, ale aminoacizilor care tapetează „buzunarul". Între acestea din urmă, o mențiune specială acordăm unei histidine din regiunea E (His E 7), histidina distală. Între cele patru lanțuri se stabilesc legături necovalente prin grupări complementare. Deosebim contacte între subunitățile identice (α — α și β — β) și între subunități neidentice $\alpha-\beta$, iar între acestea din urmă între α_1 și β_2 pe diagonală și între α_1 și β_1 pe verti-

cală. Contactele între subunităţile neidentice joacă un rol deosebit pentru cooperarea între cei patru hemi, prinderea unei molecule de O_2 pe unul din ei creşte afinitatea celorlalţi, legarea unei a doua molecule creşte şi mai mult afinitatea hemurilor rămase etc. — şi în efectul Bohr (caracterul mai acid al hemoglobinei oxigenate).

Revenind la consecinţele înlocuirilor de aminoacizi între cei care vin în contact cu hemul, se constată că majoritatea acestor înlocuiri nu sînt compatibile cu o activitate normală a hemoglobinei. Între acestea un loc deosebit îl ocupă acele variante de Hb., în care este înlocuită una din histidinele în relaţie cu hemul.

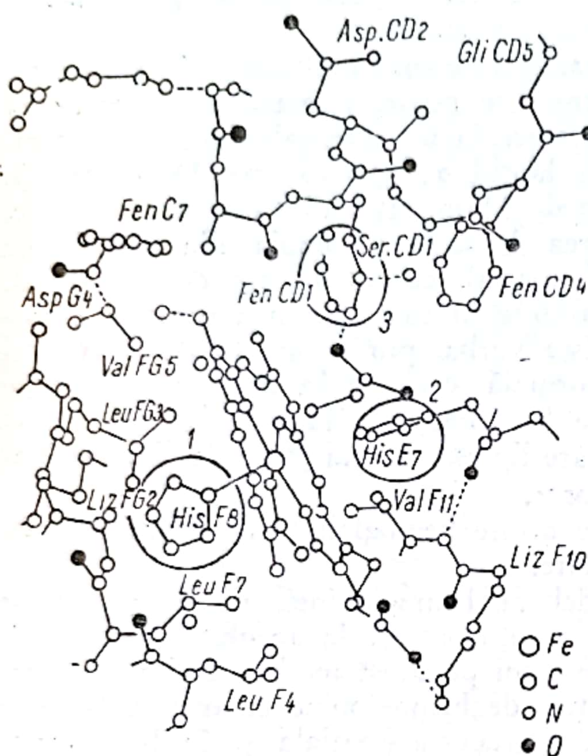


Fig. II, 3. Aminoacizii care vin în contact sau dau legături cu gruparea hem în hemoglobină. Sînt notate prin cifre: 1) Histidina proximală, F 8; 2) Histidina distală, E 7; 3) Fenilalanina, CD 1. Pentru înlocuirile acestor aminoacizi şi hemoglobine, variante genetice cu semnificaţie patologică, vezi textul.

În hemoglobinele Hb M. Boston şi Hb. M. Saskaton sînt înlocuite histidinele distale, His E 7, respectiv în prima în lanţurile α şi în a doua în lanţurile β, cu cîte o tirozină (fig. II, 3). Aceasta face ca pe de o parte să fie blocat accesul oxigenului la Fe hemului datorită inelului aromatic al tirozinei mai mare, iar pe de altă parte, datorită stabilirii unei legături de hidrogen între —OH fenolic din tirozină şi Fe, să fie favorizată forma Fe^{3+}. Consecinţele sînt o cianoză marcată şi methemoglobinemie.

Înlocuirile hemoglobinei proximale, His F 8, în lanţurile α din Hb. M. Iwate şi în lanţurile β în Hb. M. Hyde Park are consecinţe structurale deosebite. Pe de o parte evident se pierde legătura care lega Fe hemului de poziţia F 8, pe de altă parte Fe se va lega covalent de His din E 7. În acelaşi timp —OH fenolici ai tirozinelor introduse dau legături ionice cu hemul, stabilizînd forma Fe^{3+}. Accesul O_2 este blocat cu consecinţe clinice, cianoză şi methemoglobinemie.

În sfîrşit, înlocuirea chiar a unor resturi ce dau legături destul de slabe cu hemul, cum ar fi înlocuirea fenilalaninelor Fen CD 1 cu cîte o valină în lanţurile ale Hb. Torino sau în lanţurile β ale Hb. Hammersmith are urmări serioase. Fenilalaninele schimbate vin în mod normal în contact cu hemul prin doi atomi de C din ciclul benzenic, pierderea acestor contacte prin înlocuirea cu valină, deci cu un rest lateral mult mai scurt, lasă o groapă la suprafaţa buzunarului pentru hem, permiţînd pătrunderea moleculelor de apă. De aici, destabilizarea întregii structuri (majoritatea resturilor laterale din buzunar fiind apolare) a lanţurilor respective. Clinic apare o anemie cu corpusculi de incluziune (prin precipitarea Hb.).

O altă serie de înlocuiri cu consecințe structurale și funcționale deosebite, o formează acele care se petrec pentru aminoacizii ce mențin contactele între subunitățile diferite, respectiv contactele de tip $\alpha_1-\beta$, și cele de tip $\alpha_1-\beta_2$ (fig. II, 4).

Să analizăm pentru început cîteva exemple de înlocuiri în regiunea de contact de tipul $\alpha_1-\beta_1$. Înlocuirea în lanțurile β la Hb. E a acidului gluta-

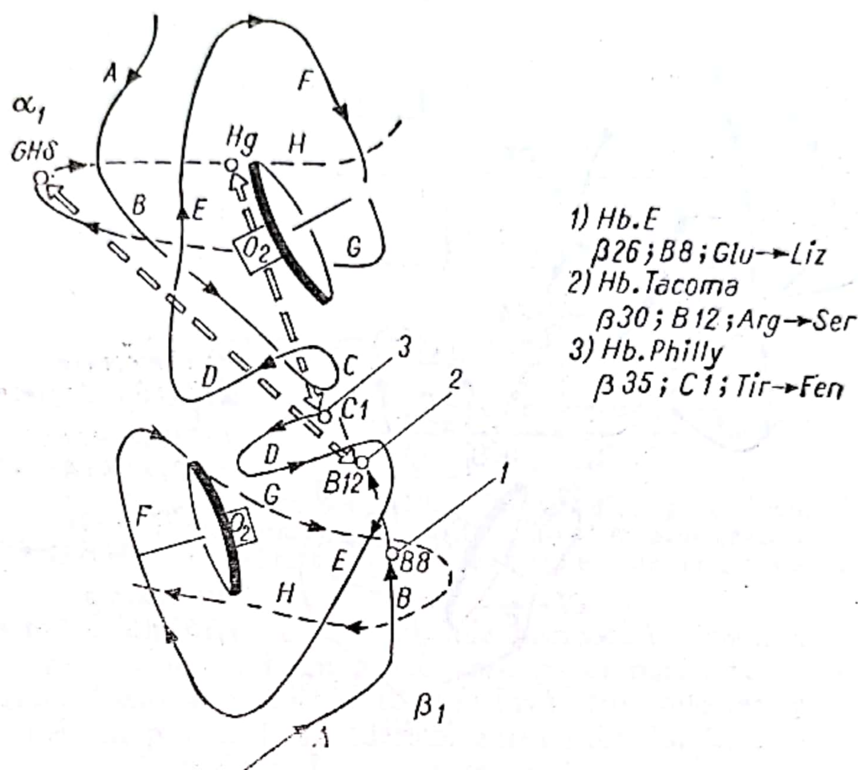


Fig. II, 4. Cîteva din legăturile de tip α_1 β_1 care mențin subunitățile hemoglobinei asociate și unele din înlocuirile resturilor de aminoacizi implicați, în diferite hemoglobine, variante cu semnificație patologică.

mic B 8 cu lizină duce la distrugerea unui sistem întreg de legături de hidrogen, destabilizînd helixul B. Această destabilizare produce și pierderea unei legături de H, în mod normal prezentă între Arg B 12 din lanțul β și poziția GH 5 din lanțul α. Ruperea acestei legături este capabilă să facă semnificativ mai ușoară disocierea moleculei în monomeri. Totodată afinitatea pentru oxigen a Hb. E este mult mai mică decît a HB. A. Consecința clinică a instabilității moleculelor tetramer de Hb. este o anemie hemolitică ușoară. O situație asemănătoare se întîlnește pentru Hb. Tacoma, în care arginina B 12 este înlocuită cu o serină în lanțurile β. În felul acesta, legătura de hidrogen între gruparea amino din restul lateral al argininei B 12 cu poziția GH 5 din α_1 nemaiputîndu-se forma se ajunge la o tendință spre disociere în monomeri. În Hb. Philly, înlocuirea unei tirozine, tir C 1, din lanțurile β cu o fenilalanină are drept consecință pierderea unei legături de H în contactele $\alpha_1-\beta_1$ stabilite între —OH tirozinei și poziția H 9 din lanțurile α_1. Este favorizată

disocierea la monomeri, care are drept consecinţă clinică o uşoară anemie hemolitică.

În ceea ce priveşte înlocuirile în regiunile ce stabilesc contacte de tip $\alpha_1-\beta_2$ se pare că consecinţele funcţionale vor fi altele. Astfel, înlocuirea în lanţurile α a argininei din poziţia FG 4 cu o glutamină în Hb. J. Capetown şi cu o leucină în Hb. Chesapeake duce la pierderea a două legături Van der Waals, existente în Hb. normală între Arg. Fg 4, din lanţurile α şi cîte o

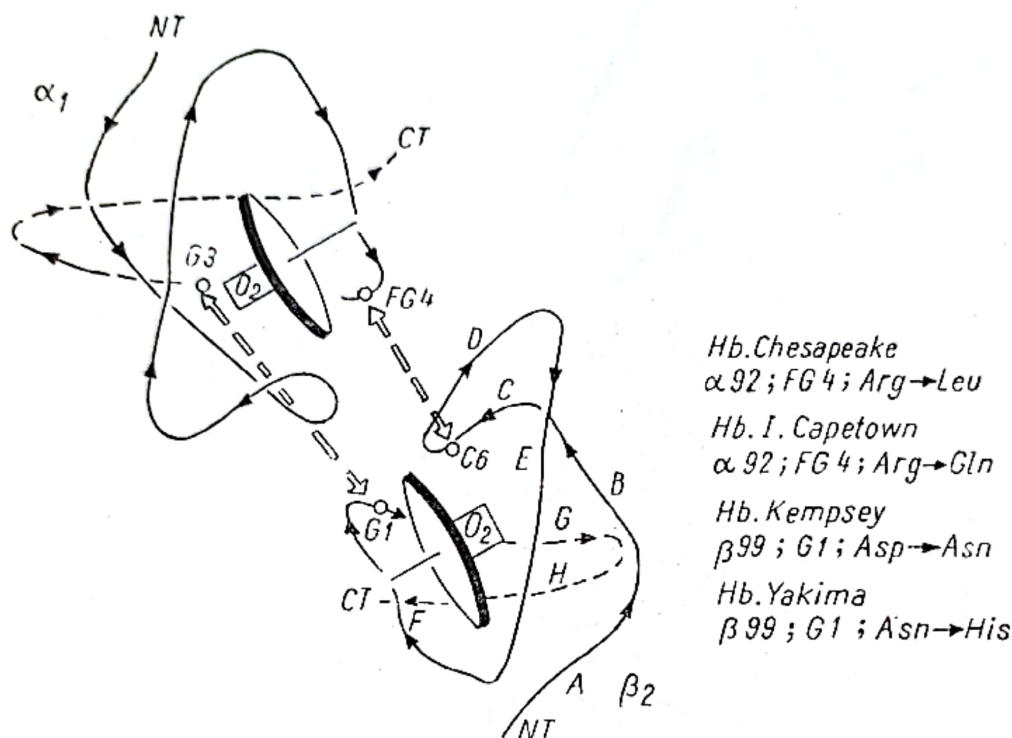


Fig. II, 5. Contacte de tip $\alpha_1 \beta_2$ şi unele înlocuiri în variante genetice ale hemoglobinei cu semnificaţie patologică.

Arg, în lanţurile β (Arg C 6) aflate în diagonala (fig. II, 5). Această pierdere aduce o afinitate mai mare pentru oxigen şi pierderea interacţiunilor hem-hem (cooperării). Consecinţa clinică este o poliglobulie care compensează tendinţa hemoglobinei de a reţine oxigenul. În hemoglobinele Kempsey şi Yakima sînt înlocuite resturile de acid aspartic din poziţiile C 1 ale lanţurilor β: în prima cu asparagină, în a doua cu histidină. Pierderea unui contact în Hb. normală, stabilit între Asp Gl din β_2 şi Val G 3 din α_1, are drept consecinţă funcţională o afinitate crescută pentru oxigen şi pierderea cooperării între grupările hem. Este destul de ciudat faptul că toate aceste patru hemoglobine prezintă un efect Bohr normal. Se credea că efectul Bohr şi cooperarea între grupările hem sînt fenomene care se petrec simultan şi sînt datorite structural deplasării lanţurilor în timpul oxigenării hemoglobinei. Toate repercusiunile funcţionale discutate pînă acum, cum sînt creşterea afinităţii pentru oxigen (sau scăderea acesteia), abolirea cooperării între grupările hem, pun destul de evident problema necesităţii unui nou capitol al

biologiei moleculare, acela al repartizării energiei în interiorul unei macromolecule în timpul activității acesteia.

În sfîrșit, o ultimă serie de înlocuiri de secvență evidențiată grupată de M. F. Perutz, sub termenul de înlocuiri în poziții generale. Între acestea există exemple care indică consecințele dezastruoasei înlocuiri a unui aminoacid cu rest lateral apolar, care privește spre interiorul cavității descrisă de regiunile helicoidale ale lanțurilor (Hb. Wien, β 130 H 8 Tir-Asp), în care

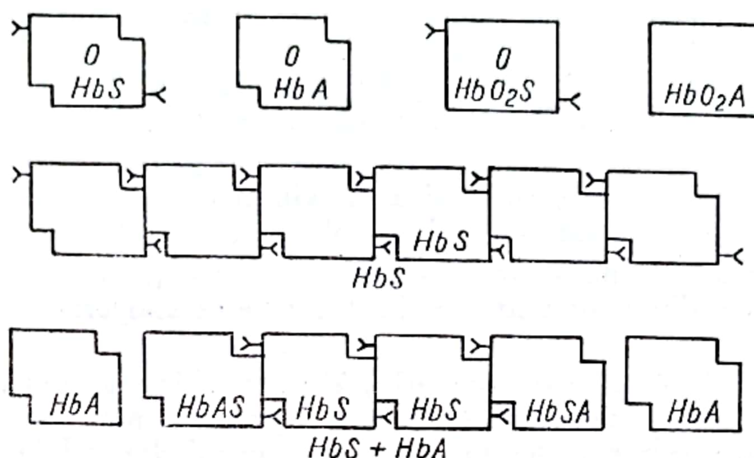


Fig. II, 6. Schema agregării moleculelor de Hb. S., în stare desoxigenată [*după M. F. Perutz* (52)]. Prin desoxigenare se modifică forma moleculei Hb., astfel că în cazul lanțurilor β^S se evidențiază un rest lateral de aminoacid care găsește un loc complementar pe o moleculă vecină etc.

Hb. este instalabilă și duce la o anemie hemolitică severă, sau introducerii unei proline în locul unui aminoacid care poate participa la structuri helicoidale (Hb. Genova β 26, B 10 Leu-Pro). Introducerea unei proline în locul leucinei din poziția B 10 (destabilizarea helixului B) conduce la anemie cu corpusculi de incluziune. Între acestea un loc deosebit îl ocupă Hb. Gun Hill în care lipsesc aminoacizii din cinci poziții consecutive în lanțurile β tocmai într-o regiune în care se găsește histidina proximală, His F. 8, numeroasele resturi care vin în contact cu hemul, altele stabilind legături între subunități. Consecința este pierderea hemului din lanțurile tetramerului și disocierea lui ceea ce se traduce clinic printr-o anemie hemolitică severă. În sfîrșit, tot în această categorie se găsește și clasica Hb. S. Consecința înlocuirii acidului glutamic din poziția A 3 a lanțurilor β cu cîte o valină este formarea de paracristale prin agregarea moleculelor de Hb. S. în stare desoxigenată în șiraguri lungi, așa cum au fost observate la microscopul electronic. Această agregare este explicată de M. F. Perutz prin aceea că desoxigenîndu-se hemoglobina își schimbă conformația (evidențiată la Hb. de cal), restul de valină introdus găsindu-și un loc complementar pe o a doua moleculă de Hb. S., de care se leagă prin interacțiuni slabe. Aceasta repetă mecanismul pentru a lega o a treia moleculă, o a patra moleculă etc. (fig. II, 6). M. Murayama (46) crede că valina care a înlocuit acidul glutamic din B 6 formează un intrînd prin alăturarea hidrofobă a restului de valină, normal la capătul N-terminal al lanțului. Agregarea moleculelor de Hb. S. desoxigenată duce la formare de paracristale (tactoizi) lungi de 1—16 μ (29), care modifică profund struc-

tura internă a hematiei (41, 64) și forma ei în consecință. Ca urmare crește mult viscozitatea sîngelui și posibilitatea de a provoca ocluzii cu consecințele lor (infarcte, necroze suprainfectate) atît de caracteristice bolii (46). În stare oxigenată, locul complementar nu există, fiind mascat de aranjarea subunităților.

Această trecere în revistă, poate puțin cam lungă, deși cuprinde doar cîteva din Hb. analizate de M. F. Perutz, are drept scop să pună în evidență stadiul cunoștințelor actuale referitoare la modificarea genetică a secvenței de aminoacizi într-o proteină activă.

În rezumat putem deci întîlni următoarele situații:

a) Afectarea activității prin modificarea secvenței în centrul activ al proteinei.

b) Modificarea proprietăților și a activității ca urmare a unei schimbări de structură tridimensională a unui lanț polipeptidic.

c) Alterarea activității prin modificarea secvenței aminoacizilor interesați în contactele dintre subunități și în procesele de cooperare (pentru enzime, procesele alosterice).

d) Extinzînd într-o oarecare măsură concluziile, ne putem aștepta ca modificarea anumitor resturi laterale într-o proteină mai complexă să ducă la imposibilitatea agregării ei în structurile organitelor celulare. Aceasta ar putea avea ca efect modificarea activității tuturor celorlalte proteine de care se leagă (vezi 47).

Datele asupra structurii tridimensionale a proteinelor se acumulează foarte repede. Se cunosc astăzi pentru o serie de enzime modele deosebit de detaliate construite pe baza difracției cu raze Röntgen la puteri mari de rezoluție. Aceste date au putut fi corelate cu mecanismul de acțiune dedus anterior indirect (60). Cu siguranță, în viitorul nu prea îndepărtat, vom cunoaște și structura enzimelor interesate în erorile congenitale de metabolism, deși deocamdată nu știm nici pentru una măcar secvențele de aminoacizi.

Pentru aceste proteine situația este similară cu cunoștințele pe care le aveam în 1949 asupra hemoglobinelor anormale.

De fapt cunoaștem astăzi cîteva variante de enzime normale diferite, ca proprietăți fizico-chimice (cum ar fi mobilitatea electroforetică, afinitate pentru substrat și inhibitori, pH optim, termolabilitate) sau ca proprietăți imunochimice, de corespondentele lor obișnuite. O parte din aceste variante au semnificație patologică, așa cum sînt variantele de pseudocolinesterază serică sensibile la relaxantul muscular succinilcolină (cea Dibucain și cea fluorurorezistentă) (cit. 42) sau pentru aceeași enzimă variantele ce și-au pierdut complet sau parțial activitatea catalitică (24). Variante cu semnificație patologică ocazională sînt și cîteva din cele descoperite pentru glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza eritrocitară (G-6-PD). Această enzimă este deosebit de importantă în economia metabolică a hematiei furnizînd $NADPH_2$, care este necesar reducerii methemoglobinei formate în mod continuu, fiziologic, precum și menținerii grupărilor —SH din proteinele de structură și funcționale ale hematiilor. Solicitarea acestor procese de oxidoreducere se poate petrece în diverse ocazii: toxice, medicamente methemoglobinizante, medicamente de tipul Primaquinului, toxice vegetale (favism), infecții microbiene sau virusale. Indivizii ale

căror hematii conţin una din aceste variante de G-6-PD normale, cu o activitate mai scăzută, manifestă o anemie hemolitică indusă. Au fost descrise de asemenea mai multe variante ale G-6-PD, care dau o anemie hemolitică congenitală nesferocitară. Diferenţele se manifestă şi prin alte proprietăţi, cum sînt pH optim, afinitatea pentru glucozo-6-fosfat, stabilitatea termică, migrarea electroforetică[1] (cit. 1, 8). Asemănător se cunosc variante genetice anormale cu semnificaţie patologică pentru piruvatkinaza eritrocitară (48, 64) şi methemoglobinreductază (65).

Pare deci că şi pentru enzime este valabil principiul potrivit căruia lipsa unei activităţi nu este totdeauna egală cu lipsa de sinteză a proteinei respective, ci, probabil, de cele mai multe ori, prin apariţia unor variante genetice ale lanţurilor polipeptidice, cu caracteristici structurale capabile să altereze activitatea catalitică. Există în general în literatură părerea că pe măsură ce vor fi cercetate mai în amănunt cauzele erorilor înnăscute de metabolism, cu atît mai des ne vom întîlni cu variante genetice de acest gen.

De altfel, precizarea modificărilor structurale în variantele genetice ale enzimelor nu este cu mult diferită de acest stadiu nici la bacterii.

Din genetica moleculară se ştie că genele nu codifică numai enzime, ci şi proteine cu alte semnificaţii funcţionale. In domeniul patologiei moleculare au fost descrise de curînd entităţi cauzate de modificări ale secvenţei de aminoacizi, prin condiţionarea genetică pentru tipuri de molecule proteice neenzimatice. Prima se referă la un defect de coagulare a sîngelui, transmis genetic, datorit unei modificări de structură a fibrinogenului. Varianta genetică poartă numele de fibrinogen Detroit şi a fost descrisă de B. Blomback şi colab. (11). Această echipă de cercetare lucrează de mai mulţi ani la stabilirea secvenţei de aminoacizi pentru lanţurile care compun molecula fibrinogenului. In urma dovezilor aduse, molecula fibrinogenului este formată din două jumătăţi identice. Fiecare jumătate este formată din trei tipuri de lanţuri polipeptidice: α(A), β(B), şi γ, toate trei fiind cu capetele N terminale în aceeaşi parte. Secvenţa acestor capete N terminale a fost determinată pe o porţiune de cîteva zeci de poziţii (fig. II, 7 partea înnegrită). Prin acţiunea proteazică a trombinei din capătul N terminal a lanţurilor α(A) şi β(B) se eliberează peptidele respective, A şi B. In restul secvenţei, capetele N terminale conţin într-o regiune scurtă aproape toate cisteinele din lanţurile respective. Intre aceste cisteine se stabilesc punţi —S—S— care leagă lanţurile într-un nod. În felul acesta, modelul dedus prin datele microscopiei electronice devine mai inteligibil, aglomerările sterice de la capete reprezentînd nodurile disulfhidrice N terminale pentru fiecare din cele două jumătăţi, iar cea din mijloc unirea jumătăţilor în regiunea capetelor C terminale ale lanţurilor, prin legături a căror natură nu ne este deocamdată cunoscută.

În fibrinogenul de tip Detroit în locul glicocolului din poziţia 19 a lanţului α (A) se găseşte o serină. Inlocuirea nu împiedică acţiunea trombinei, dar, se pare, că dezorganizează formarea nodurilor N terminale şi astfel împiedică agregarea moleculelor de fibrinogen în fibrină. O indicaţie asupra modificării structurii spaţiale în această moleculă este faptul că fibrinogenul Detroit con-

---

[1] Vezi şi Capitolul „Individualitatea biochimică".

ţine mai puţin zaharid legat de lanţul γ (legarea zaharidului se face foarte probabil între poziţiile 46 şi 53) decît fibrinogenul de la indivizii normali.

O a doua entitate este aşa-numita boală a lanţurilor grele. Cei cîţiva bolnavi la care a fost descrisă prezentau limfadenopatie generalizată, splenomegalie, anemie şi o tendinţă marcată la contractarea de diverse infecţii bacte-

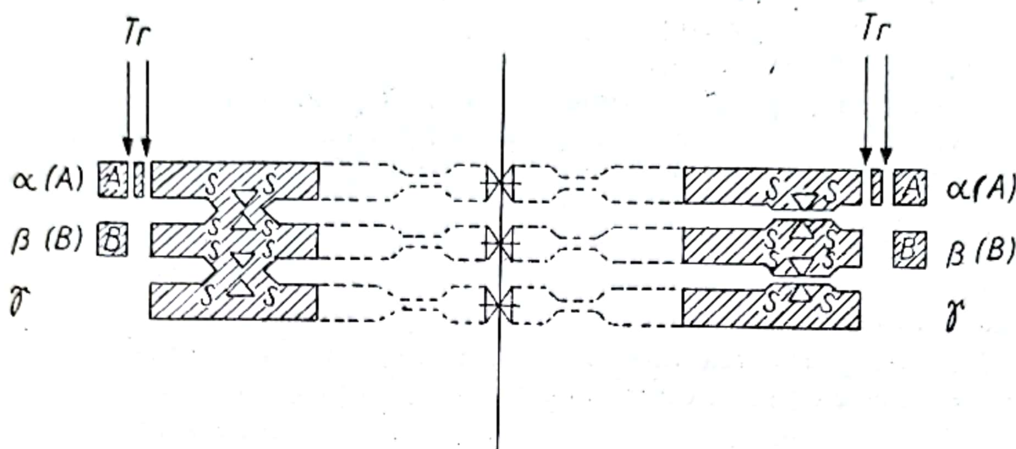


Fig. II, 7. Schema moleculei de fibrinogen [*după B. Blombäck şi colab.* (11)]. De remarcat punţile —S—S— care unesc cele trei lanţuri.

riene. Ei eliminau prin urină în mod continuu lanţuri grele γ de globuline nelegate de lanţuri uşoare. Investigaţia structurii acestor lanţuri, făcută de către J. W. Prahl (55) a arătat că ele conţineau porţiunea C terminală din lanţurile grele identică cu cea a lanţurilor respective din γ-globulinele normale. De asemenea, o secvenţă scurtă din capătul N terminal al acestor lanţuri grele patologice este identică cu cea a lanţurilor obişnuite. Diferenţa ar consta tocmai în lipsa regiunii din secvenţa de aminoacizi care conţine cisteinele pentru punţile

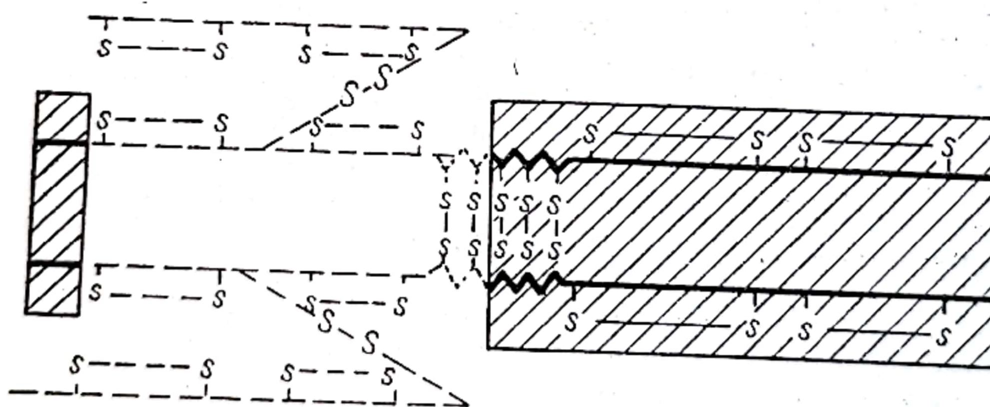


Fig. II, 8. Schema regiunii pierdute din secvenţa normală a γ-globulinelor în boala lanţurilor grele, [*după J. W. Prahl* (55)].

—S—S— ce leagă lanţurile uşoare în globulinele normale. Absenţa acestei regiuni din secvenţă s-ar explica printr-o deleţie (fig. II, 8) (porţiunea punctată = regiunea deleţiei).

A fost descrisă recent o proteină care din date imunologice pare să fie un factor VIII modificat, la cîțiva bolnavi de hemofilie A (18). Similar au fost descrise cazuri de hemofilie B, la care factorul IX (PTC) pare să fie sintetizat, dar cu o structură nefuncțională (56).

În sfîrșit, izolarea în stare purificată a globulinei de legare a tiroxinei (TBG), o proteină serică de transport a hormonului, a făcut posibilă precizarea că în anumite cazuri de „deficiență" a acesteia se sintetizează o secvență modificată, fără proprietăți fiziologice, care păstrează însă determinanții imunologici obișnuiți. Asemănarea între situația întîlnită pentru aceste proteine și cea descrisă de Yanofsky, de exemplu, pentru anumite proteine de la mutanți de *Neurospora*, care nu mai păstrau activitatea enzimatică normală, dar dădeau reacții imunologice încrucișate cu enzimele obișnuite („proteine" CRM, de la *cross reacting material*) (68), este evidentă.

Din cele discutate pînă acum reiese faptul că mutațiile care afectează genele ce codifică secvențele de aminoacizi în lanțurile polipeptidice ale proteinelor cu diverse activități (gene de structură) pot avea drept consecință producerea unor proteine alterate funcțional[1]. Modificarea minimă de structură capabilă să altereze activitatea unei proteine este, vorbind în termeni de structură tridimensională, pierderea a 1—2 din miile de legături necovalente care se găsesc în molecula proteinei. Se poate presupune că în foarte multe din „erorile înnăscute de metabolism", lipsa de activitate enzimatică, evidențiată în diversele etape ale căilor metabolice, se datorează tocmai unor asemenea structuri proteice modificate care nu-și mai îndeplinesc funcția.

Trebuie însă să admitem că dacă nu toate, așa cum se credea pînă nu de mult, cel puțin o parte din deficiențele de activități metabolice deficitare se pot datori unei lipse de sinteză a enzimelor respective, adică absenței lor reale din celule.

IV. CONCEPTUL OPERONULUI ȘI MUTAȚII PE GENE REGLATOARE

Lipsa de sinteză a unor enzime în diverse condiții metabolice și sinteza lor în altele, la *Esch. coli* a constituit faptul de la care au plecat F. Jacob și J. Monod (33) în cercetările lor și i-au condus la modelul de reglare a biosintezei proteice la bacterii.

După acest model, genele de structură pentru enzimele aceluiași lanț metabolic se găsesc ordonate una după alta. Intrarea lor în „activitate" este condiționată de lipsa blocării unei regiuni de la începutul grupului, numită operator. Operatorul este blocat de o substanță, astăzi cunoscută ca fiind o

[1] Situația de fapt este, cel puțin teoretic, ceva mai complicată. Este posibil de întrevăzut ca anumite tipuri de mutații pe gene de structură să ducă la o lipsă de sinteză a proteinei respective (cum este cazul unei mutații pe „codonul de inițiere" prezent la capătul fiecărei gene), la sinteza numai a unei părți din lanțul polipeptidic (în cazul unei mutații ce produce pe parcursul genei un codon „non-sens") sau la o proteină complet modificată ca structură începînd cu un anumit aminoacid din secvență (în cazul unei mutații cu „schimbarea cadrului de citire").

proteină, numită represor, condiționată genetic la rîndul ei de o genă reglatoare.

Represorul are două tipuri de locuri de legare — două specificități — unul pentru legarea sa de secvența nucleotidelor caracteristică operatorului, cel de-al doilea pentru cuplarea unor metaboliți specifici din mediu. După cum prin legarea acestor metaboliți represorul își schimbă forma, el se leagă mai ușor sau mai greu de operator. În unul din cazuri, represorul se poate lega de operator doar după combinarea sa cu un corepresor, reprezentat de multe ori prin produsul ultimei enzime din lanțul metabolic condiționat de tot grupul de gene de structură. Este cazul sistemelor represibile. În alt caz, prin combinarea represorului cu un metabolit numit inductor, se pierde capacitatea de a se lega de operator. Inductorul este adesea prima substanță din lanțul metabolic specificat de genele de structură din operon.

Mutațiile pe gene reglatoare pot duce, după caz, la:

a) Modificarea regiunii prin care represorul leagă corepresorul, consecința fiind imposibilitatea activării necesare prinderii pe operator și sinteza continuă a proteinelor codificate de genele de structură.

b) Modificarea regiunii prin care represorul se prinde de operator, în consecință datorită lipsei continui de blocare a genelor de structură, urmează sinteza continuă a proteinelor respective.

c) Modificarea regiunii prin care represorul prinde inductorul, datorită lipsei de inactivare a represorului; sinteza proteinelor respective este blocată tot timpul.

De remarcat că în timp ce primele două tipuri de mutații vor fi, în cazul celulelor diploide, mutații recesive, cel de-al treilea va fi dominant, ceea ce contează fiind existența unor molecule de represor capabile să se lege de regiunea operator.

Mutațiile în regiunea operator care duc la modificarea acestuia astfel încît să nu mai poată fi recunoscută de represor conduc la o deblocare continuă a genelor de structură cu sinteza consecutivă a proteinelor respective. Trebuie remarcat că acest tip de mutații este dominant (sau parțial dominant) într-o celulă diploidă fiind suficient să funcționeze unul din cei doi operoni prezenți pentru sinteza enzimelor respective.

Acest model al operonului are meritul de a fi indicat pentru prima dată în ce mod se poate ajunge de la mutații la prezența în cantități diferite de normal a unor enzime. Aplicarea lui *ad literam* la celulele superioare este imposibil de făcut și pentru moment este prudent să rămînem doar cu imaginea că există și în aceste celule gene de control a căror mutație duce la modificarea cantității de proteine sintetizate nu și a structurii lor.

Există fapte din domeniul erorilor congenitale de metabolism, care amintesc de cele găsite în urmărirea mutațiilor în genele reglatoare la bacterii. Astfel se știe că pentru multe sisteme de bacterii, în condiții de represie completă a genelor din operon, se găsesc totuși activități enzimatice de ordinul a 0,01—2% din activitatea enzimelor respective în condiții de inducție maximă. Activități de același ordin au fost găsite în anumite tipuri de erori înnăscute de metabolism la om, cu toate că structura enzimelor deficitare a fost găsită normală. Este cazul activității catalazei din hematiile unor bolnavi de acatala-

zemic și a xantinoxidazei în ficatul celor afectați de xantinurie. De aici sugestia unor mutații pe genele reglatoare similare celor amintite anterior la punctul (c) (cit. 1, 58).

O situație, în care analogia cu sistemele bacteriene pare și mai evidentă, este cea întîlnită în oroticacidurie. La acești bolnavi, activitățile a două enzime din calea de sinteză a pirimidinnucleotidelor, respectiv orotidin-5'-fosfatpirofosforilaza și orotidin-5'-fosfatdecarboxilaza sînt prezente în cantități mai mici de 1% din normal. Aceasta explică blocajul metabolic cu acumulare de acid orotic. Pe de altă parte, structura enzimelor respective este normală astfel încît situația nu se poate explica decît printr-o lipsă de sinteză. Similar, la *Esch. coli*, cele două enzime se găsesc pe același operon, iar mutații pe gena reglatoare duc la represia lor simultană continuă (37).

Un defect de reglare se bănuiește și în diferitele tipuri de talazemie. Cum biosinteza lanțurilor α este independentă de a celorlalte, o blocare a genei lor duce la tipurile de α-talazemie, în care se găsesc hemoglobinele anormale H (β_4^A) și Barts (${}_4^F\gamma$). O blocare a genei β ar explica sinteza crescută pentru lanțurile δ și de aici producerea de Hb. A_2 în cantități crescute în cazurile de β-talazemie. Aceasta, deoarece genele pentru β și δ se găsesc una după alta, o blocare a lui β ducînd la o hiperactivare a genei anterioare ei, așa cum se observă pentru anumiți operoni bacterieni. În sfîrșit, deoarece după naștere se oprește sinteza lanțurilor γ și începe cea pentru β, este de presupus că genele γ sînt blocate într-un fel oarecare de intrarea în activitate a celor pentru β. În cazul blocării genelor β, biosinteza hemoglobinei Hb. F ($\alpha_A^2\gamma_F^2$) rămîne nereprimată (cit. 4, 40, 47).

Există de asemenea la bacterii mutații pe genele de control a căror consecință este o hiperinducție a genelor din operon, o situație similară este suspectată în porfiria acută intermitentă pentru prima enzimă din lanțul de biosinteză a porfirinelor (62). Pînă nu de mult se credea că majoritatea erorilor înnăscute de metabolism se datorează lipsei de sinteză a enzimelor respective (49). În sensul celor discutate la subtitlul anterior, nu putem face și astăzi aceeași afirmație cu tot atîta certitudine.

V. PERSPECTIVE

Numărul mereu în creștere a diverselor erori congenitale de metabolism nou descoperite sugerează că acest gen de afecțiuni va putea fi evidențiat cu timpul pentru oricare din etapele diverselor căi cunoscute în metabolism, desigur cu excepția cîtorva căi esențiale (care o dată afectate duc la moarte). Suspectarea unei asemenea afecțiuni poate fi făcută pentru foarte multe boli ereditare cunoscute. Deosebit de eficace este căutarea de erori înnăscute ale metabolismului în bolile psihice și cu deficit mintal, creierul fiind în general un organ foarte sensibil la cele mai mici dereglări ale metabolismelor. O altă categorie mare de boli, la care probabil viitorul va aduce multe precizări, în aceeași ordine de idei, este cea a bolilor endocrinologice. Lipsa de sinteză sau sinteza în cantități crescute a unui hormon duce la un tablou clinic caracteristic, ușor de recunoscut.

Rămîne viitorului un mare volum de muncă în stabilirea etapei enzimatice deficitare în bolile înnăscute de metabolism și în entitățile ce vor fi descoperite. Acest deziderat impune găsirea unor tehnici de dozare a activității enzimelor, rapide, simple și suficient de precise, pentru a fi aplicate pe scară mare. O dată stabilită care anume activitate enzimatică este deficitară, pasul următor este precizarea dacă această deficiență se datorește sintezei unei proteine cu structura modificată sau unei lipse de sinteză, cu alte cuvinte dacă este vorba de o mutație pe o genă structurală sau de control. Dar, așa cum am mai amintit în majoritatea erorilor înnăscute de metabolism, nu se poate face cu certitudine o asemenea precizare. Mutațiile afectează și alte proteine în afara celor cu activitate enzimatică și acestea, la rîndul lor, sînt de asemenea un domeniu cu mari posibilități de dezvoltare.

În cazul stabilirii că activitatea deficitară se datorește unei modificări de structură a proteinei respective, va trebui indicată natura acestei modificări sau, cu alte cuvinte, ce schimbări se produc în secvența de aminoacizi a enzimei respective și ce repercusiuni au ele asupra structurii tridimensionale. Evident, acest lucru nu este deloc ușor și probabil va ocupa cîteva decenii. Investigațiile de acest gen se leagă de una din problemele fundamentale ale biochimiei și anume, legătura într-o anumită structură și o anumită activitate. Cu cît se vor acumula mai repede în acest domeniu cît mai multe date, va deveni mai ușor posibilă trecerea la o etapă mai avansată în cunoașterea fenomenelor care stau la baza vieții și anume, înțelegerea schimburilor repartizării energiei ce se petrec în moleculele biologic active.

Rămîne de asemenea deschis un mare domeniu, acela al modului în care sînt reglate genele în celulele organismelor superioare. Cu siguranță că așa cum studierea diverșilor mutanți la bacterii a dus la modelul operonului, studierea diverselor entități de felul celor amintite va ajuta la înțelegerea specificului celulelor superioare.

Ce s-ar putea spune, din punctul de vedere al biologiei moleculare, despre tratamentul acestor boli? Deocamdată cel mai eficace mijloc este desigur evitarea apariției de homozigoți. Aceasta impune din nou aplicarea pe scară largă a unor metode de dozare sigure, rapide și precise, capabile să evidențieze purtătorii heterozigoți pentru genele respective. Rămîn desigur și mijloacele metabolice, adică evitarea din dietă a compușilor al căror catabolism este împiedicat sau suplimentarea cu produșii imposibil de sintetizat. În anumite cazuri, de lipsă a unor enzime (proteine) din plasmă, este de pe acum posibilă administrarea acestora sub formă de injecții. Pentru o conservare mai îndelungată și datorită lipsei reacțiilor imunologice, enzimele deficitare par a fi cel mai bine de administrat în microcapsule semipermeabile. În acest fel a fost aplicată cu succes o enzimă extrasă din fungi, pentru modificarea uricemiei la oameni (35) și animale (2) sau catalaza pentru tratamentul experimental al șoarecilor acatalazemici (14).

Nu este deloc exclus ca în timp să fie găsite mijloace chimice prin care să poată fi corectată modificarea de structură în proteinenzima respectivă sau și mai probabil de activare a genelor represate.

La fel nu pare imposibil de găsit mijloacele prin care să poată fi introduse în celule, cu ajutorul virusurilor, unele gene normale. Deși ultimele

două categorii, cunoscute sub termenul lui Ed. Tatum de chirurgie genetică (23), par de domeniul fanteziei științifice, ele au cel puțin meritul de a stimula cercetarea multor aspecte fundamentale. Mai ușoară ca aplicabilitate în viitorul apropiat ar fi înlocuirea organelor în care este manifestă deficiența enzimatică.

BIBLIOGRAFIE

1. Aebi H. E. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, 36, 271.
2. Altman K. I., Shull K., Baron E. S. G. — *Arch. Biochem*, 1949, 21, 158.
3. Avery O. T., MacLeod C. M., McCarty M. — *J. exp. Med.*, 1944, 79, 137.
4. Baglioni C. — Molecular Genetics, vol. I, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York — Londra, 1963, p. 405.
5. Beadle G. W. — Selected Papers on Molecular Genetics, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 17.
6. Beadle G. W., Tatum E. L. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1941, 27, 499.
7. Benzer S. — The Chemical Basis of Heredity, edit. W. D. McElory, B. Glass, Ed. J. Hopkins, Baltimore — Maryland, 1957, p. 70.
8. Beutler E. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc Graw-Hill, New York, 1966, p. 1 060.
9. Beutler G. C., Marrian G. F. — *J. biol. Chem.*, 1937, 119, 565.
10. Blacwell R. Q., Yang H. J., Wang C. C. — *Biochim. biophys. Acta (Amst.)*, 1969, 175, 273; 1969, 188, 59.
11. Blombäck B., Blombäck M., Henschen A., Hessek B., Iwanga S., Woods K. R. — *Nature (Lond.)*, 1968, 218, 130.
12. Bongiovanni A. M. — *J. clin. Invest.*, 1958, 37, 1 342.
13. Bongiovanni A. M. — *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 860.
14. Chang T. M. S., Poznansky M. J. — *Nature (Lond.)*, 1968, 218, 243.
15. Dintefass L. — *Haematologia*, 1968, 2, 19.
16. Eberlein W. R., Bongiovanni A. M. — *J. biol. Chem.*, 1956, 223, 85.
17. Ephrussi B. — *Quart. Rev. Biol.*, 1942, 17, 327.
18. Feinstein D., Chong M. N. Y., Kasper C., Rapaport S. I. — *Science*, 1969, 163, 1 071.
19. Fitzpatrick T. B., Quevedo W. V. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 324.
20. Flling A. — *Z. Physiol. Chem.*, 1934, 227, 169.
21. Garrod A. E. — *Lancet*, 1908, 2, 142.
22. Gentz J., Jagenburg R., Ztterstöm R. — *J. Pediat.*, 1965, 66, 670.
23. Gilman W. — *Science*, The Viking Press, New York, 1965.
24. Goedde H. W., Atland K. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1968, 151, 540.
25. Goldman A. S. Bongiovanni A. M., Yakovac W. C., Prader A. — *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 894.
26. Gross O. — *Biochem. Z.*, 1914, 61, 165.
27. Haggis G. H., Michie D., Muir A. R., Roberts K. B., Walker P. M. B. — Introducere în biologia moleculară, Ed. științifică, București, 1968.
28. Harris H. — Human Biochemical Genetics, Cambridge University Press, Londra, 1959.
29. Harris J. W. — *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y)*, 1950, 75, 197.
30. Hsia D. Y. Y. — Bolile metabolismului, edit. G. G. Duncan, Ed. medicală, București, 1966, p. 392.
31. Ingram V. M. — *Nature (Lond.)* 1956, 178, 792.
32. Ingram V. M. — The Biosynthesis of Macromolecules, Ed. W. A. Benjamin, New York — Amsterdam, 1965.
33. Jacob F., Monod J. — *J. molec. Biol.*, 1961, 3, 318.
34. Jervis G. A. — *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y)*, 1953, 82, 514.

35. Kissel P., Lamarche M., Royer R. — *Nature, (Lond.)*, 1968, 217, 72.
36. Kuox W. E. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 1 100.
37. Kuang-Dong Wuu, Krooth R. S. — *Science*, 1968, 160, 539.
38. La Du B. N. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 303.
39. La Du B. N. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 295.
40. Lehmann H., Huntsman R. G., Ager J. A. M. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, 1966, p. 1 100 şi 1 356.
41. Lewis S. M., Osborne J. S., Stuart P. R. — *Nature* (*Lond*), 1968, 220, 614.
42. Marshall J. S., Pensky J. — *J. clin. Invest.*, 1969, 48, 508.
43. Mendes G. şi colab. — *Biochem. J.*, 1932, 26, 914.
44. Migeon C. J., Gardner L. I. — *J. clin. Endocr.*, 1957, 12, 1 513.
45. Milstein C., Fragione R. — *Nature* (*Lond.*), 1969, 224, 597.
46. Murayama M. — *Science*, 1966, 153, 145.
47. Nance W. E., Clafin A., Smithies O. — *Science*, 1964, 145, 595.
48. Paglia D. E., Valentine W. N., Baugham M., Miller D. R., Reed C. F., Mc Intyre O. R. — *J. clin. Invest.*, 1968, 47, 1 929.
49. Parker W. C., Bearn A. G. — *Amer. J. Med.*, 1963, 34, 680.
50. Pauling L., Itano H. A., Singer S. J., Wells I. C. — *Science*, 1949, 110, 543.
51. Perutz M. F. — Proteins and Nucleic Acids, Ed. Elsevier, Amsterdam, — Londra — New York, 1962.
52. Perutz M. F., Lehmann H. — *Nature* (*Lond.*), 1968, 219, 902.
53. Perutz M. F., Muirhead H., Cox J. M., Goaman L. C. G. — *Nature* (*Lond.*), 1968, 219, 131.
54. Peters S. A. — Biochemical Lesions and Lethal Synthesis, Ed. Pergammon, Amsterdam — New York — Londra, 1963.
55. Prahl J. W. — *Nature* (*Lond.*), 1967, 215, 1 386.
56. Roberts H. R., Grizzle J. E., McLester W. D., Penick G. D. — *J. clin. Invest.*, 1968, 47, 360.
57. Schroeder W. A. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1963, 32, 301.
58. Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. S. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 3.
59. Stempfel R. S., Tomkins G. M. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 635.
60. Stryer L. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1968, 37, 25.
61. Taylor J. H. — Selected Papers on Molecular Genetics, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 3.
62. Tschudy D. P., Perroth M. G., Marver H. S., Collins A., Hunter G. Jr., Rechoigl M. Jr. — *Proc. nat. Acad. Sci.* (*Wash.*), 1965, 53, 841.
63. Tsugita A., Fraenkel-Conrat H. — Molecular Genetics, vol. I, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York — Londra, 1963, p. 477.
64. Valentine W. N., Tanaka K. R. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 1 051.
65. West C. A., Comperts B. D., Huehns E. R., Kessel I., Ashby J. R. *Brit. med. J.*, 1967, 4, 212.
66. Wiley J. S. — *Nature* (*Lond.*), 1968, 31, 561.
67. White J. C. — *Blood*, 1968, 31, 561.
68. Yanofsky C., Helinski D. R., Maling B. D. — *Cold Spr. Harb., Symp. quant. Biol.*, 1961, 26, 11.



Capitolul al III-lea

INDIVIDUALITATEA BIOCHIMICĂ ŞI BOLILE MOLECULARE

I. Manta

I. INTRODUCERE

Noţiunea de individualitate este deosebit de familiară pentru medicul de astăzi, indiferent dacă munca sa se desfăşoară la patul bolnavului sau în laborator. Sesizată încă de Hipocrate, această noţiune şi-a întregit sensul abia în ultimul secol. Importanţa ei este relevată de formularea astăzi clasică: „ceea ce tratăm sînt bolnavii şi nu bolile".

Aprofundarea fenomenelor biologice la nivel molecular deschide în prezent calea spre o înţelegere mai completă a individualităţii şi implicit spre o utilitate practică sporită.

Abordarea acestei noţiuni se leagă de aspectul fundamental în biologie, de variabilitatea în cadrul unei specii date.

Ştim încă de mult că valorile aşa-zise normale pentru diversele dozări chimice în materialele biologice nu pot fi reprezentate printr-o cifră unică, de fiecare dată fiind vorba de o limită superioară şi de una inferioară a normalului. În multe cazuri, acest lucru este deosebit de supărător, deoarece valorile găsite în condiţii patologice au un domeniu care se suprapune parţial peste cel normal. Un exemplu tipic am putea da pentru valoarea activităţii pseudocolinesterazice din ser (11). Se ştie că enzimele responsabile pentru această activitate sînt sintetizate în ficat şi că în unele afecţiuni hepatice, sinteza lor suferă mult înaintea altor semne şi se menţine deficitară pînă la refacerea funcţională a organului. Aplicabilitatea acestor date este limitată însă, deoarece domeniul valorilor normale este foarte întins, limita superioară fiind mai mult decît dublul celei inferioare, astfel că în multe cazuri, chiar o reducere a sintezei cu 50% nu poate fi stigmatizată cu certitudine ca atare (fig. III, 1). De aici rezultă consecinţa că pentru a avea o semnificaţie absolută ar fi necesar să se cunoască valoarea normală a individului respectiv, ceea ce evident este rareori posibil. În cazul altor dozări, situaţia este poate şi mai complexă, fiind vorba de metaboliţi în a căror producere intervin mai multe enzime. Desigur, o mare parte din variaţii sînt date de condiţiile diferite în care se găsesc indivizii respectivi (alimentaţie, activitate fizică, factori fizico-chimici etc.). Nu este mai puţin adevărat însă că se vor obţine valori diferite pentru

indivizi diferiți menținuți în aceleași condiții. În acest caz, explicația nu poate veni decît dacă admitem o normă de răspuns înnăscută, caracteristică fiecărui individ.

Ceea ce apare din ce în ce mai evident astăzi este că la nivel molecular, individualitatea biochimică se explică prin diferențele minore, transmise ereditar, în structura proteinelor (enzimelor) și în concentrația acestora, care la rîndul lor afectează toți parametrii funcțiilor biochimice integrate.

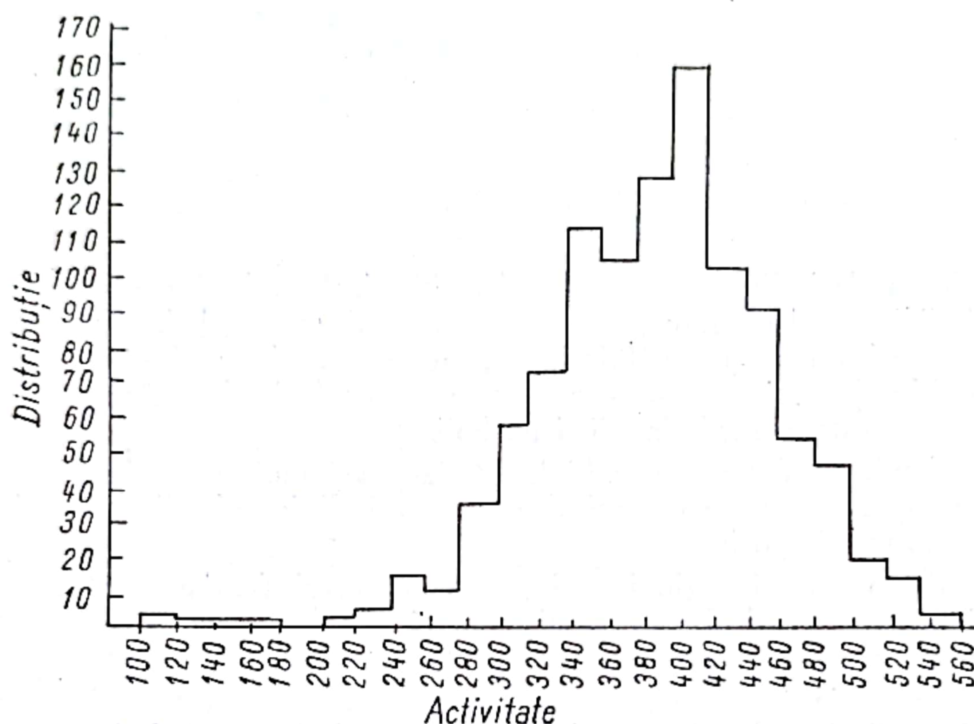


Fig. III, 1. Distribuția valorilor activității pseudocolinesterazei în ser la un număr mare de persoane (2 600) [*după datele lui H. W. Neitlich* (35)]. În aceeași lucrare a fost găsită și o variantă cu o activitate de 5 ori mai mare decît valorile medii obișnuite.

Ce s-ar putea spune despre mecanismele genetice care stau la baza acestor variante proteice? Fie că este vorba despre modificări de structură, fie că este vorba de concentrații diferite, evenimentul primar este o mutație în primul caz pe o genă de structură, în al doilea pe o genă de control. Gena modificată se transmite la descendenți prin procesele de duplicare a ADN. Totodată, prin procesele de recombinare, în care se schimbă material genetic între cromozomii omologi, caracterul inițial al mutației poate fi modificat. În sfîrșit, un alt proces care intervine în variabilitate este distribuția la întîmplare a fiecăruia din cromozomii pereche în timpul diviziunii reductive în cele două celule fiice din care numai una devine o celulă sexuală.

Această formulare este deocamdată, și probabil va rămîne încă destul timp, greu de dovedit în întregime prin exemple bazate pe cifre, datorită

căilor de metabolism atît de ramificate și greutăților inerente studiului structurii enzimelor la om. Probabil va putea fi aplicată cu succes și într-un viitor apropiat pentru substanțele al căror metabolism este limitat la cîteva etape, fără ca produsele lor de metabolism să intre în căile comune ale metabolismului. Substanțe de acest gen sînt foarte multe din medicamentele folosite. Pentru o parte dintre acestea s-a putut evidenția un metabolism diferit, în funcție de individualitatea genetică a indivizilor. Pentru a da un exemplu, de curînd, E. S. Vesell și J. G. Page (48) au administrat fenilbutazonă (6 mg/kilocorp) la 7 perechi de gemeni univitelini și bivitelini, urmărind apoi viteza de metabolizare a medicamentului. La gemenii univitelini s-a găsit, în cazul fiecărei perechi, o viteză de metabolizare identică (sau aproape), în timp ce gemenii bivitelini prezentau valori diferite unul de altul. Valorile găsite în general pentru timpul necesar reducerii cu 50% a concentrației fenilbutazonei în sînge variau între 1,2 și 7,3 zile. Se bănuiește că explicația acestor date constă din diferențele între enzimele hepatice care hidroxilează substanța (la indivizi diferiți) și în identitatea acestor enzime la indivizii genetic identici (gemenii univitelini). Date de acest gen își găsesc încă de pe acum o importanță majoră în terapeutică și în toxicologie. Date similare au fost raportate pentru antipirină (49) și dicumarol (50).

II. VARIABILITATEA PROTEINELOR (ENZIMELOR) LA OM

Rezumînd situația în care se găsesc astăzi cunoștințele noastre putem spune că:

a) fiecare individ prezintă un model metabolic unic în cadrul modelului general al speciei umane;

b) o parte din aceste „individualități" sînt deja caracterizate prin valori și date biochimice;

c) pentru multe dintre ele se poate indica și explicația moleculară, respectiv enzima sau proteina afectată genetic ca structură sau sinteză defectuoasă; de altfel avem numeroase exemple de proteine (enzime) a căror structură este modificată, fără ca prin aceasta să ducă la o modificare metabolică (sau probabil să ducă la una prea mică pentru metodele actuale de investigație). În cele ce urmează ne vom ocupa puțin de acest gen de variante.

În capitolul anterior s-a arătat, cu ocazia discutării hemoglobinopatiilor, că nu orice modificare de structură prin cauze genetice este urmată neapărat de o modificare a activității proteinei respective. Din cele 100 de hemoglobine patologice doar 1/3 sînt capabile să ducă la manifestări clinice. Este necesar ca modificarea structurală să afecteze configurația tridimensională a proteinei în anumite regiuni sau locuri critice, pentru a duce la consecințe asupra activității. În sfîrșit, chiar în cazul unei asemenea modificări, organismul este uneori capabil să compenseze o funcție parțial deficitară, și în condiții care solicită la maximum mecanismele implicate (1).

Variante genetice au fost descrise și pentru anumite enzime. Numărul descoperit de variante pentru acestea este însă cu mult mai mic decît cifra hemo-

globinelor. Nu este însă exclus ca în timp, această diferență să devină mult mai mică, pe măsură ce cercetările se vor extinde.

Un bun exemplu de variante genetice ale unei enzime ni-l oferă situația descrisă pentru lactatdehidrogeneză. Din cîte știm astăzi o moleculă de enzimă este formată din 4 subunități, care pot să fie de două feluri, combinabile în orice proporție (sau după termenul consacrat „care hibridizează liber"). Cele două tipuri de subunități sînt notate după țesutul în care predomină cu literele H (*hert*=inimă) și M (*muscle*=mușchi). Se pot forma astfel 5 izoenzime, respectiv HHHH, HHHM, HHMM, HMMM, și MMMM, notate după ordinea migrării electroforetice de la anod: LDH_1 (H_4), LDH_2 (H_3M) etc. pînă la LDH_5 (M_4). Fiecărui țesut îi corespunde o anumită concentrație din fiecare izoenzimă, după gradul în care sînt sintetizate cele două tipuri de subunități (33). Fiecărui tip de enzimă îi corespund anumite proprietăți fizico-chimice și caracteristici ale activității diferite de ale celorlalte. Fiecare din cele două tipuri de subunități este codificată de o anumită genă. Au fost găsite la om variante enzimatice datorite unor mutații fie pe gena pentru subunitatea de tip cardiac, fie pe cea pentru tipul muscular (cit. 9, 27, 34). Variantele descoperite diferă de enzimele normale prin migrarea electroforetică. La heterozigoți, unde se sintetizează două tipuri de subunități de tip cardiac (H și H') sau două tipuri de subunități de tip muscular (M și M'), datorită combinării în tetrameri, apar în locul celor 5 izoenzime, un număr de 15, așa cum reiese din schema de mai jos:

Variantă pentru subunitatea de tip cardiac:

LDH_1	LDH_2	LDH_3	LDH_4	LDH_5
HHHH	HHHM	HHMM	HMMM	MMMM
HHHH'	HHH'M	HH'MM	H'MMM	
HHH'H'	HH'H'M	H'H'MM		
HH'H'H'	H'H'H'M			
H'H'H'H'				

Variantă pentru subunitatea de tip muscular (M'):

LDH_1	LDH_2	LDH_3	LDH_4	LDH_5
HHHH	HHHM	HHMM	HMMM	MMMM
	HHHM'	HHMM'	HMMM'	MMMM'
		HHM'M'	HMM'M'	MMM'M'
			HM'M'M'	MM'M'M'
				M'M'M'M'

A fost descrisă însă și o variantă la care subunitatea de tip muscular modificată genetic nu se mai poate combina liber cu subunitatea musculară normală, din totalul izoenzimelor posibile teoretic (în număr de 15) la heterozigoți, neformîndu-se decît o parte (8) și anume cele în care nu se găsesc împreună subunități de tip muscular modificate genetic și normale (cit. 9, 34).

Descrierea de noi variante a devenit posibilă mai ales după introducerea tehnicilor de electroforeză în gel de amidon sau de poliacrilamidă sau pe hîrtie-acetat de celuloză. Aceste tehnici sînt un mijloc relativ simplu de investigație în masă, spre deosebire de tehnicile enzimologice clasice care necesită în prealabil purificarea enzimei respective și urmărirea cineticii de reacție pen-

tru diverse substrate și inhibitori. Din păcate, tehnicile electroforetice nu pot releva acele variante în care substituția de aminoacizi nu duce la o modificare a sarcinii electrice a moleculei (41).

O altă enzimă la care se cunosc variante este carbonicoanhidraza din hematii. Enzima are o mare importanță pentru schimburile de CO_2 și O_2 și este, după hemoglobină, proteina cu cea mai mare concentrație în hematii. Au fost descrise 2 izoenzime în eritrocit: una care migrează electroforetic mai puternic înspre anod și este mai puțin activă enzimatic, notată cu CA I, și una mai lentă cu o activitate mai puternică, notată cu CA II. Ambele izoenzime se găsesc în mod normal și sînt formate fiecare din cîte un singur lanț polipeptidic cu o greutate moleculară (G. M.) de 30 000, la care este legat un atom de Zn. R. E. Tashian și colab. (46) au descoperit două variante pentru CA I cu o migrare electroforetică mai înceată decît CA I normală. Ele au fost notate în ordinea migrării electroforetice, cea normală cu CA I_a, iar variantele cu CA I_b și CA I_c. Dintre acestea, CA I_c este deosebit de interesantă, deoarece activitatea ei este mai mare decît a enzimei normale. Determinarea parțială a secvenței de aminoacizi a arătat că este vorba de înlocuirea unui rest de glicocol cu unul de arginină înspre capătul C terminal al lanțului polipeptidic (47).

Pînă acum au fost găsite trei variante pentru mioglobina umană (15, 17), proporția fiind aproximativ de o variantă la 500 de indivizi examinați. Pentru una dintre acestea a fost posibil să se stabilească și modificarea de secvență; este vorba de înlocuirea acidului glutamic din poziția 53 (regiunea D 4) cu o lizină (17).

Polimorfismul unei alte enzime, fosfataza acidă în hematii (care diferă de cea prostatică), a fost în ultimul timp un subiect deosebit de fructuos pentru investigații (20). Au fost descoperite, prin studii pe un număr mare de indivizi, 6 modele de migrare electroforetică a enzimelor respective. Acest polimorfism

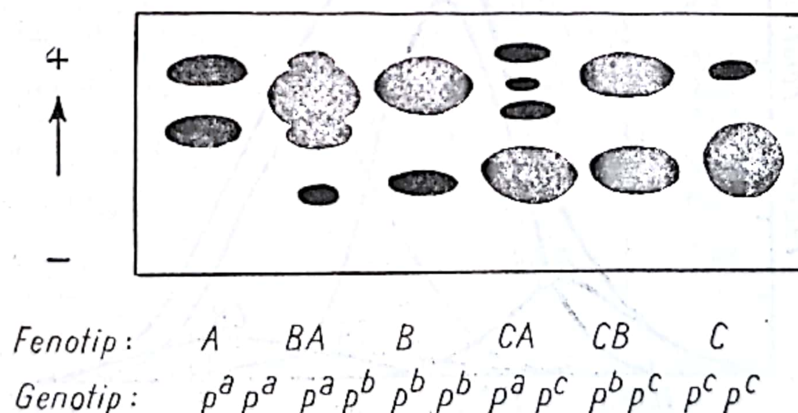


Fig. III, 2. Migrările electroforetice ale diverselor forme de fosfatază acidă eritrocitară în fenotipuri diferite [*după H. Harris și colab.* (20)].

a fost atribuit prezenței la populație a 3 variante pentru gena care codifică enzima (sau după cum se mai spune în genetică a 3 alele pentru un locus genetic). Variantele respective sînt notate P^a, P^b, și P^c. Fenotipurile posibile sînt cele 3 produse de homozigoți pentru fiecare din alele: $P^aP^a = A$, $P^bP^b = B$,

P^cP^c = C (ultimul este foarte rar) şi cele 3 produse de heterozigoţi: P^aP^b = BA, P^aP^c = CA, P^bP^c = BCB (fig. III, 2).

Pentru toate populaţiile investigate, frecvenţa cea mai mare a fost găsită pentru variantele P^a şi P^b cu valori însă mult diferite de la o populaţie la alta, în timp ce alela P are o frecvenţă foarte mică (tabelul I).

TABELUL III, 1

Distribuţia alelelor P^a, P^b, P^c în diverse populaţii

Populaţia	P^a	P^b	P^c
Japonia	0,39	0,61	—
U.S.A.	0,39	0,55	0,06
Anglia	0,36	0,60	0,04
Germania	0,27	0,72	0,01
Negrii (U.S.A.)	0,23	0,76	0,01
Negrii (Anglia)	0,20	0,80	—
Orientali (U.S.A.)	0,19	0,80	0,01
Brazilia	0,19	0,77	0,03
Tristan da Cunha	0,09	0,91	—
Aborigeni din Australia	0,016	0,984	—

În cazul acestei enzime, diferenţele de migrare electroforetică sînt însoţite de diferenţe de activitate specifică a fiecărui tip de variantă. Astfel, valorile medii ale activităţii atribuibile pentru cele 3 alele (P^a, P^b, P^c) se găsesc într-un

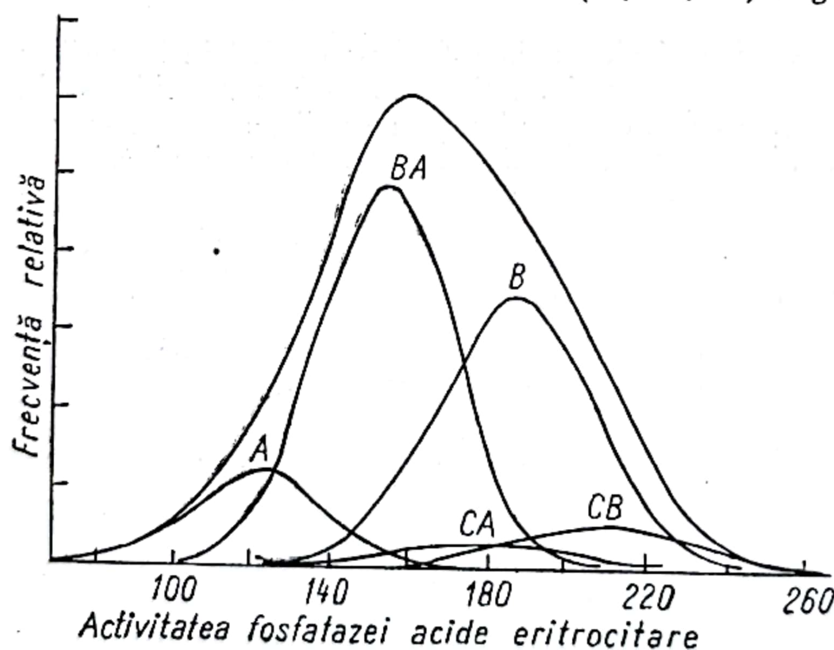


Fig. III, 3. Distribuţia valorilor activităţii fosfatazei acide eritrocitare global (curba superioară) şi în diferite fenotipuri [*după H. Harris şi colab.* (20)].

raport de 2:3:4. În fiecare din cele 6 fenotipuri rezultate din cîte 2 alele prezente, enzimele îşi aduc contribuţia la activitatea totală, ceea ce duce la valori diferite de activitate enzimatică pentru fiecare fenotip.

Studiind într-o populaţie dată, activitatea fosfatazei acide eritrocitare şi reprezentînd grafic valorile găsite faţă de frecvenţa cu care se găseşte valoarea respectivă, H. Harris (20) a obţinut o curbă de distribuţie continuă unimodală de o formă al cărei aspect nu diferă de oricare altă curbă de frecvenţă. Studiind însă la aceiaşi indivizi distribuţia valorilor de activitate după apartenenţa la un fenotip sau la altul se obţin o serie de curbe de distribuţie (fig. III, 3) separate, care se suprapun parţial, fiecare cuprinzînd o parte din domeniul curbei generale. Sumarea acestor curbe pentru diferitele fenotipuri dă curba generală a valorilor normale în întreaga populaţie. Această demonstraţie deosebit de pregnantă s-ar putea foarte probabil să explice cazuri similare de extindere a valorilor normale pe un domeniu larg. Totodată este evidentă importanţa determinării fenotipului pentru dozarea unei activităţi enzimatice.

Plecînd de la existenţa unui polimorfism cu o frecvenţă suficient de mare a variantelor pentru a avea semnificaţii într-o populaţie, H. Harris a urmărit 10 enzime alese la întîmplare. Dintre acestea, 7 prezintă variante cu o frecvenţă suficient de mare (tabelul III, 2). Din datele lucrării lui H. Harris

TABELUL III, 2

Polimorfismul enzimatic în populaţia din Anglia (după H. Harris)

Enzima	Număr de alele cu o frecvenţă mai mare de 0,01	Frecvenţa celui mai comun fenotip	Probabilitatea ca 2 indivizi luaţi la întîmplare să aparţină aceluiaşi fenotip
Fosfataza acidă din hematii	3	0,43	0,34
Fosfoglucomutaza	2	0,58	0,47
Fosfataza alcalină din placentă	3	0,41	0,31
Acetiltransferază	2	0,50	0,50
Adenilatkinaza	2	0,90	0,82
Colinesteraza serică			
Locusul E_1	2	0,96	0,92
Locusul E_2	2	0,90	0,82
6-fosfogluconatdehidrogenaza	2	0,96	0,92
Combinat		0,037	0,011

reiese că probabilitatea ca doi indivizi aleşi la întîmplare dintr-o populaţie să aibă acelaşi fenotip pentru toate enzimele respective este mai mică de 1 la 70. Extrapolînd aceste date şi luînd în consideraţie totalitatea tipurilor de proteine existente într-un organism uman (apreciat la circa -10^5) sau chiar numai pentru enzimele cunoscute (în număr de aproximativ 1 000) ne putem da seama că gradul diferenţelor între indivizi prin variaţii minore în modelul enzimatic trebuie să fie enorm. Probabilitatea ca doi indivizi să fie exact de acelaşi fenotip este atît de mică, încît nu este suficient nici măcar numărul total al indivizilor de la începuturile speciei umane pînă acum.

III. RELAȚIA VARIANTE GENETICE — BOLI MOLECULARE

În principiu, situația este similară pentru orice variantă, indiferent dacă activitatea enzimei care rezultă este sau nu alterată. Astfel, dacă la variantele de fosfatază, discutate mai înainte, raportul activităților pentru cele 3 variante ar fi nu de 2:3:4, ci de 1:10 și frecvența alelei cu activitatea mai scăzută ar fi de ordinul celei pentru P^c, în loc de variante, așa cum se denumesc astăzi, am avea de-a face la homozigoți cu „afosfatazemie" și la heterozigoți cu „hipofosfatazemie" (1).

Astăzi apare din ce în ce mai evidentă afirmația lui A. E. Garrod: „Am putea spune că erorile înnăscute ale metabolismului nu sînt altceva decît exemple extreme ale variațiilor comportamentului chimic întîlnite pretutindeni" (cit. 1).

Cu alte cuvinte, pentru ca o variantă genetică să aibă semnificația unei boli moleculare este necesar să fie depășită o anumită limită a consecințelor funcționale. Din acest punct de vedere am putea schematiza o clasificare a variantelor astfel:

a) variante cu păstrare aparent integrală a activității;

b) variante cu o ușoară modificare a activității, fără consecințe metabolice datorită posibilității de compensare sau cu consecințe doar în cazul unei suprasolicitări a activităților respective;

c) variante cu consecințe metabolice chiar în condiții obișnuite (43). Pe de altă parte este de așteptat ca o alelă cu consecințe funcționale grave să aibă o frecvență mult mai mică decît celelalte, tocmai datorită șanselor mai mici de supraviețuire a indivizilor care o poartă.

Pentru a exemplifica cele de mai sus vom prezenta cîteva proteine (enzime), pentru care se cunosc diferite variante, dintre care unele se încadrează printre bolile moleculare.

Astfel, începînd din 1961 (cit. 61), au fost descrise aproape 40 de variante pentru glucozo-6-fosfatdehidrogeneza eritrocitară. Nu se poate încă preciza cu certitudine dacă toate acestea sînt sau nu entități distincte, tocmai fiindcă nu se cunoaște secvența de aminoacizi pentru lanțurile polipeptidice ale enzimei. Această enzimă are o importanță deosebită în hematii, prin faptul că furnizează $NADPH_2$ necesar sistemelor enzimatice care reduc methemoglobina formată în mod fiziologic sau patologic, precum și grupele —SH libere din alte proteine celulare (unele cu rol structural). De obicei, enzima din hematii migrează electroforetic la fel (tip B), indiferent de populația studiată (negri sau albi) și prezintă aceleași proprietăți fizico-chimice și enzimatice. S-a izolat însă de la negri o enzimă diferită, cu migrare electroforetică mai rapidă (tip A), fără a se deosebi prin alte proprietăți de cea obișnuită (tabelul III, 3). Au fost descrise pe lîngă acestea și alte variante cu migrare electroforetică diferită de A sau B la negri și albi concomitent, cu proprietăți fizicochimice modificate, care nu se asociază cu o scădere semnificativă a activității enzimei și nici nu duc la condiții patogene (pînă la nr. 15, inclusiv din tabelul III, 3). Alte variante, deși diferă de cele obișnuite și printr-o acti-

vitate enzimatică redusă (nr. 16—21 din tabelul III, 3) nu se acompaniază totuşi de semne clinice. Variantele A− la negri şi B− la albi (nr. 22 şi 23), deşi păstrează o migrare electroforetică apropiată de modelul obişnuit au activităţi specifice mult reduse. Acestea duc în cazul variantei A− la anemii hemolitice prin administrare de medicamente (Primaquin) sau în timpul unor infecţii, iar în cazul variantei B− la manifestări similare, inclusiv icter hemolitic neonatal în cazul ingerării de fasole fava (favism), de medicamente (Cloramfenicol) sau în procese infecţioase. În sfîrşit, o serie de alte variante (nr. 24—37) se manifestă clinic prin anemii hemolitice congenitale neferocitare în lipsa oricărui factor declanşator.

O menţiune specială merită o variantă de glucozo-6-fosfatdehidrogenază, descoperită de curînd (17), „G6PD Hektoen", care se deosebeşte relativ puţin de tipul obişnuit B, dar are o activitate specifică ceva mai mare şi, ceea ce este important, se sintetizează în cantităţi crescute la individul purtător. Ar putea să fie vorba de unul din cazurile de mutaţie pe o genă de reglare.

Exemplul variantelor pentru glucozo-6-fosfatdehidrogenaza din hematii este, după cum se poate observa, deosebit de demonstrativ pentru clasificarea dată şi ilustrează relaţia de similaritate între „variantele naturale ale unei enzime şi cele care le încadrăm între bolile moleculare".

O enzimă cu un rol asemănător este 6-fosfogluconatdehidrogenaza eritrocitară. Ea produce $NADPH_2$ prin oxidarea 6-fosfogluconatului la 6-fosfo-3-cetogluconat. Se cunosc pînă acum 5 alele principale pentru gena care controlează enzima, respectiv PGA^{α}, PGA^{β}, PGA^{γ}, PGA^{δ}, şi PGA^{0}, dintre care ultima duce la o lipsă cvasitotală de activitate în stare de hemozigot (14, 37). De curînd a fost descrisă o a 6-a alelă, cu o răspîndire restrînsă într-o anumită regiune din Australia: PGA^{Elcho} (8). Din totalul de 15 fenotipuri posibile pentru cele 5 alele mai frecvente s-au întîlnit pînă acum 8, a căror frecvenţă este dată în tabelul III, 4 (cit. 37), pentru populaţia din Anglia. Enzima obişnuită este dată de alela PGA^{α}; dintre celelalte mai adesea se găseşte PGA, evident în special la heterozigoţi PGA^{α}/PGA^{β}. Frecvenţa PGA^{β} este diferită după populaţie, variind de la zero la un grup mic de indieni din America Centrală la 0,153 pentru negrii din Africa şi 0,021—0,039 pentru caucazienii din Europa şi America (cit. 8). Varianta „Elcho" a fost găsită limitată la un grup etnic din Australia sub formă de heterozigoţi PGA^{α}/PGA^{Elcho} cu o frecvenţă a genei de 0,017 (8).

Altă enzimă care prezintă variante potenţial patologice este pseudocolinesteraza serică. Variantele au fost descoperite ca urmare a unor accidente după administrare de succinilcolină, un relaxant muscular care în mod normal este hidrolizat de această enzimă. Pe lîngă alela normală (E_1^u) au mai fost descrise: alela E_1^a responsabilă pentru sinteza unei variante deficitare în hidroliza succinilcolinei rezistentă la inhibiţia prin dibucaină (spre deosebire de cea normală (25) şi într-o oarecare măsură sensibilă la fluorură (cea normală este mai sensibilă): E_1^f care condiţionează prezenţa unei variante mai puţin deficitare în hidroliza succinilcolinei, cu sensibilitate intermediară între cele două de mai sus pentru dibucaină şi fluorură (21); în sfîrşit, alelele E_1^s a căror prezenţă duce la o lipsă de activitate enzimatică (cit. 31, 86). În ta-

Nr. crt.	Tip de G-6 PD (indicele bibliografic)	Populaţie	Activitate (%)	Mobilitate electroforetică
1	A (cit. 6)	Negri	100	Rapidă (A)
2	B (cit. 6)	Albi	100	Lentă (B)
3	Baltimore-Austin (cit.3)	Negri	75	<B
4	Ibadan-Austin (cit. 3)	Negri	72	<Bal.-Aus.
5	Sardinia I (cit. 12)	Albi		<Ib.-Aus
6	Sardinia II (cit. 12)	Albi		<Srad I
7	Minas-Gerais (3)	Brazilieni	70	Tip B
8	Madrona (23)	Negri	70–80	<B
9	Madison (cit. 12)	Norvegieni	100	Ceva <decit B
10	Andhra-Pradesch (c.3)		100	>B
11	King Country (cit. 3)	Negri	100	Ceva > B
12	Lagos (cit. 3)	Negri	100	Ceva > B
13	Sao Paolo (cit. 3)	Brazilieni	100	Ceva > B
14	Ijebu-Ode (32)	Negri (Nigeria)	100	Tip A
15	Ita-Bale (32)	Negri (Nigeria)		Tip A
16	Seattle (6) (cit. 6)	Albi (anglo-saxoni)	8–21	Mult mai < B
17	D (cit. 12)	Albi (anglo-saxoni)	15–25	Mult mai < B
18	Barbieri (cit. 6)	Italieni	50	>B
19	Canton (cit. 12)	Chinezi	4–24	Între A si B
20	Capetown (cit. 12)	Negri	50	B
21	Paris III (12)	Albi (greci)	2,5	B
22	A⁻(cit. 6)	Negri	15–25	A sau >
23	B⁻(cit. 6)	Mediteranieni (evrei, greci italieni)	2–15	B
24	Oklahoma (cit. 6)	Albi	4–10	B
25	Chicago I (cit. 70)	Albi	9–26	B
26	Ohio (cit. 7)	Albi (italieni)	2–16	>B
27	Bangkok (45)	Tailandezi	5	B
28	Albuquerque (7)	Albi (anglo-saxoni)	1	B
29	Duarte (7)	Albi	8,5	B
30	Mediteranian (7)	Evrei	0–1	B
31	Paris I (12)	Albi (francezi)	0–10	?
32	Paris II (12)	Albi (francezi)	0	B
33	Eyssen (cit. 12)	Albi	0	>B
34	Tübingen (cit. 12)	Albi (Olanda)	0,3	B
35	Berlin (12)	Albi (germani)	0–1	
36	Hong Kong (cit. 7)	Chinezi	0–15	≥B
37	Milwaukee (53)	Albi (porto-ricani)	0–1	>B



K_m G-6-P	K_m NADP	Afinitate pentru 2-d-C-6-P	Stabilitate termică	Curba de activitate în funcție de pH	Manifestări clinice	Observații
N	N	N	N	N	—	—
N	N	N	N	N	—	—
↗++	N	N	N	N	—	—
↗++	N	N	N	N	—	—
?	?	?	?	?	—	—
?	?	?	?	?	—	—
N(↙)	N	↗	N	N	—	—
N(↙)	N	N	N	N	—	—
↙	?	?	?	?	—	—
?	?	?	?	?	—	—
N(↙)	N	↗	N	N	—	—
?	?	?	?	?	—	—
?	?	?	?	?	—	—
N	↗		↗++		—	—
↗	N	↗	↙		—	—
↙	↙	↗	N	Bimodală	—	—
↗	↗		N		—	—
↙	↙	↗	↙	Bimodală	—	—
↙	↙	↗	N	Bimodală	—	—
↙					—	—
N	N(↙)	↗++	N(↙)	N	Sensibilitate la Primaquin, infecții	
↙	↙	↙	N(↙)	Bimodală	Anemii induse de medicamente, infecții, favism icter neonatal	Pr
↗++	↗	N	↙	Vîrf ascuțit	Anemie hemolitică congenitală nesferocit (AHCN)	
N	N	N	↙++	N	AHCN	
↗	↗	N	↙++	?	AHCN	—
N	N	↗	↙++	Deplasată	AHCN	—
↗++	↗++	0	↙++	N	AHCN	—
N	N	N(↗)	↙++	Deplasată	AHCN	—
↙	↙	↗ +	↙	Deplasat	AHCN	—
↗			↙++	Anormal	AHCN	—
↗		↙	↙	Anormal	AHCN	—
?	?	?	Labilă la rece	?	AHCN	—
↙	↙	?	?	?	AHCN	—
↗ ?	?	0	?	?	AHCN	—
↙	?	↗		N	AHCN	—
↗+++	?	N	N	N	AHCN	—

TABELUL III, 4

Variantele de 6-fosfogluconatdehidrogenază eritrocitară (37)

Denumirea fenotipului	Activitate față de normal (%)	Genotip		Frecvența %
Normal	100	PGA^{α}	PGA^{α}	95
1/2 Activitate	50–60	PGA^{α}	PGA°	1(?)
Common variant	80–100	PGA^{β}	PGA^{β}	4
Cannig	70–90	PGA^{β}	PGA^{α}	0,05
1/2 Cannig	40–50	PGA^{β}	PGA°	0,02
Richmond	100	PGA^{α}	PGA^{δ}	0,05
Hackney	100	PGA^{α}	PGA^{δ}	0,02
Full	0–10	PGA°	PGA°?	0,02

belul III, 5 sînt date fenotipurile cunoscute (cu mențiunea că alelele E_1^s nu pot fi încă deosebite una de alta), pentru variantele de mai sus. Tot pentru pseudocolinesterază a mai fost descris un locus (E_2) responsabil pentru prezența la anumite persoane a 5 benzi de migrare electroforetică pentru această enzimă, caracter care se moștenește ereditar (22). Aceste persoane prezintă evident o activitate colinesterazică serică mai mare decît media. A fost descrisă și în cazul acestei enzime o variantă ereditară, cu o activitate specifică de 3—4 ori mai mare decît enzima obișnuită, dar deocamdată nu s-a putut preciza dacă alela mutantă este pe E_1 sau pe E_2 (35). Varianta cu activitate mai mare se deosebește și prin afinitatea pentru inhibitori organofosforici (35). Activitatea specifică mai mare condiționată de prezența unei variante genetice a fost descrisă și pentru alcooldehidrogenaza hepatică. Din nou variantele se deosebeau de enzima obișnuită prin comportamentul față de anumiți inhibitori (51).

TABELUL III, 5

Principalele fenotipuri de pseudocolinesterază cunoscute

Fenotip	Genotip	Sensibilitate la succinilcolină
	Homozigoți	
U (normal)	$E_1^u E_1^u$	Insensibil
A	$E_1^a E_1^a$	Foarte sensibil
F	$E_1^f E_1^f$	Moderat sensibil
S	$E_1^s E_1$	Foarte sensibil (lipsă activitate)
	Heterozigoți	
UA	$E_1^u E_1^a$	Insensibil
UF	$E_1^u E_1^f$	Insensibil
US	$E_1^u E_1^s$	Insensibil
AF	$E_1^a E_1^f$	Moderat sensibil
A	$E_1^a E_1^s$	Foarte sensibil
F	$E_1^f E_1^s$	Moderat sensibil

În sfîrşit, pentru o altă enzimă — catalaza din eritrocite — a putut să fie evidenţiat faptul că în unele cazuri de aşa-numită acatalazemie, ea nu lipseşte de fapt, ci este prezentă o variantă cu o stabilitate mai redusă. Pentru această enzimă a fost descrisă şi o variantă care se deosebeşte prin migrarea electroforetică, dar cu aceeaşi activitate ca şi cea normală (1). De altfel, la şoareci se cunoaşte bine polimorfismul acestei enzime (18).

Se mai cunoaşte o proteină serică ale cărei variante se pare că realizează manifestări clinice, deşi deocamdată nu se poate preciza în ce mod anume. Este vorba de inhibitorul tripsinei care migrează electroforetic la pH 8—9 împreună cu α_1-globulinele serice. În 1963, S. Eriksson a descris lipsa înnăscută a acestei fracţiuni la un număr mare de indivizi afectaţi de o formă gravă de emfizem pulmonar. Această asociere a fost de atunci confirmată prin mai multe lucrări (cit. 28). Trei ani mai tîrziu a fost descrisă o variantă genetică a α_1 inhibitorului antitripsinic, caracterizată printr-o migrare electroforetică mai înceată (cit. 39).

După cum se poate remarca, toate proteinele discutate, la care s-au evidenţiat pînă acum variante genetice, se găsesc fie în plasmă, fie în hematii. Aceasta, se înţelege, datorită accesibilităţii relativ uşoare. Nu aceeaşi este însă situaţia pentru enzime, care se găsesc numai în alte ţesuturi, aşa cum am amintit în capitolul precedent.

Pentru a încheia acest capitol este poate bine să subliniem faptul că vînătoarea după noi variante genetice pentru proteinele (enzimele) cunoscute este doar la început şi că ne putem aştepta în anii care vin la multe descoperiri de acest gen.

IV. VARIABILITATEA PROTEINELOR CA MIJLOC DE CARACTERIZARE GENETICĂ

Deşi nu intră în scopul nostru să dezvoltăm acest aspect al problemei, este totuşi bine să amintim că multe din variantele genetice descoperite pentru diverse proteine au intrat în uzul curent al încadrării genetice a indivizilor. În principiu, orice variantă de proteină poate fi folosită ca un criteriu genetic, dar pentru studii în populaţie este desigur necesar ca ea să prezinte o frecvenţă suficient de mare. Criteriile de încadrare genetică aduse prin descoperirea variantelor pentru anumite proteine au o valoare deosebită pentru medicina legală, etnografie, antropologie.

Chiar caracterele genetice, clasice, cum sînt prezenţa substanţelor pentru diferitele grupe sanguine încep să fie fundamentate enzimologic. Astfel s-au găsit fucoziltransferaze cu specificitate de substrat caracteristică pentru mucopolizaharidele hematiilor specifice pentru grupul A (26), B (38), Lewis (Le^a şi Le^b) (19) şi pentru caracterul antigenic tisular H (cit. 19).

În ultimii ani au mai fost descrise o serie de variante genetice pentru multe din proteinele serice, pentru unele fiind posibil de indicat şi numărul de alele implicate: 10 tipuri diferite de albumine (cîteva cu posibile implicaţii patologice) (2) (cit. 5, 10, 30), 4 alele diferite pentru proteinele Gc din

grupul α_2-globulinelor, 2 alele pentru lipoproteinele de densitate joasă, 17 tipuri de transferitine (cit. 5), 4 alele pentru componenta C_3 a complementului (β_{1C}-globuline) (4), 3 alele pentru locusul Inv al lanţurilor uşoare k, 2 pentru variantele Mz şi 2 pentru Oz ale lanţurilor uşoare, 6 pentru variantele Gm ale lanţurilor grele din γ-globuline (4). Am vrea să precizăm doar variantele unei singure proteine din cele folosite în încadrarea genetică şi anume cele ale haptoglobinei.

Haptoglobina a fost descrisă de Polonovsky şi Jayle ca o fracţiune din globuline care se combină cu hemoglobina (cit. 5). O dată cu introducerea tehnicii de electroforeză în gel de amidon, O. Smithies (42) a arătat că migrarea electroforetică nu este totdeauna aceeaşi la indivizi diferiţi. Astfel, la un grup de indivizi se observă o singură bandă de migrare deplasată înspre anod. Haptoglobina de acest tip a fost notată cu Hp 1—1. La alţi indivizi se putea observa un grup de benzi dintre care nici una nu corespundea poziţiei pentru Hp 1—1. În sfîrşit, un al treilea grup de indivizi prezintă mai multe benzi de migrare electroforetică, din care una în dreptul poziţiei pentru Hp 1—1. Grupul a fost notat cu Hp 2—1. Explicaţia constă din faptul că haptoglobinele sînt compuse din două tipuri de subunităţi: unele mai mici notate cu α (G. M. 9 000) şi altele mai mari β (G. M. 65 000) (fig. III, 4). Fiecare subunitate β leagă două α. Variantele amintite mai sus se datorează unor alele pentru gena subunităţii α. În fenotipul Hp 1—1, banda unică este dată de

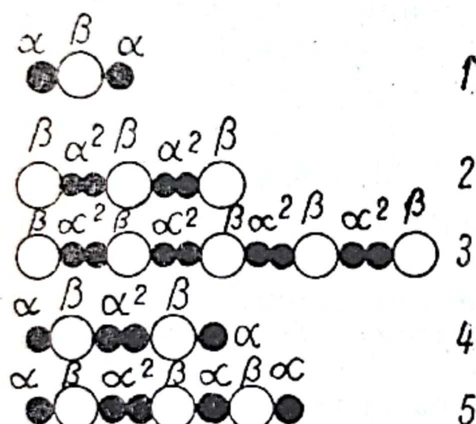


Fig. III, 4. Schema modului de formare a moleculelor de haptoglobine.

Rîndul 1 — molecule găsite în fenotipul pH 1—1; rîndul 2 şi 3 — 2 din tipurile de polimeri posibili în fenotipurile Hp. 2—2, unde există subunităţi α^2; rîndurile 3 şi 4; 2 din formele de polimeri posibili în fenotipurile Hp. 2—1, unde există subunităţi α alături de α^2.

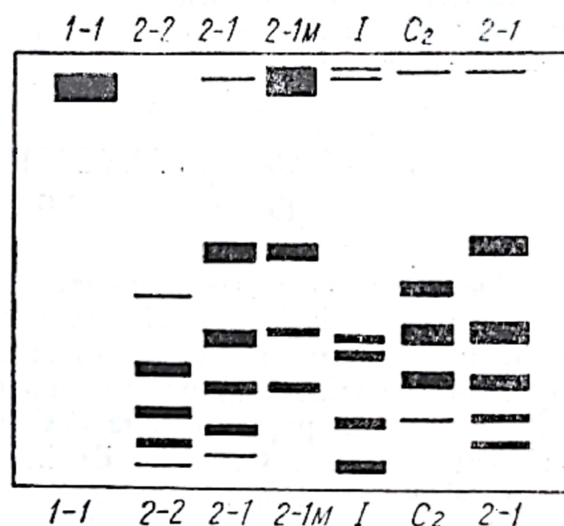


Fig. III, 5. Benzile de migrare electroforetică a haptoglobinelor în diverse fenotipuri posibile [după A. G. Bearn şi H. Cleve (5)].

molecule formate din 2 subunităţi α şi β. În fenotipul Hp 2—2 avem de-a face cu indivizi homozigoţi pentru alela Hp^2. Această alelă rezultă din sudarea parţială a 2 gene Hp^{1}_{2} obişnuite, astfel că proteina rezultată α_2 va avea dimensiuni aproximative duble faţă de obişnuit. Benzile multiple sînt date de formarea unei serii de polimeri de tip $(\beta\alpha^2)_M$ unde M=3, 5, 7. În cazul pre-

zenței la heterozigoți a unei gene Hp^2 și a uneia Hp^1, polimerii formați vor fi de forma $(\alpha_2\beta)_M$, unde M=2, 4, 6 (dacă considerăm $\alpha_2=2$), ceea ce explică migrarea benzilor în fenotipul Hp 2—1 (fig. III, 5).

Pentru gena de tip Hp^1 se cunosc două variante: Hp^{1F} și Hp^{1S}, în care proteinele rezultate au migrare mai rapidă *(fast)* sau mai înceată *(slow)*.

După felul genelor de tip Hp^1, care s-au sudat parțial pentru a da o genă Hp^2 vom avea $Hp^{2\ F-F}$, $Hp^{2\ S-S}$ și $Hp^{2\ F-S}$. Au mai fost găsite și alte fenotipuri: 2—1 M în care benzile se aseamănă cu cele din 2—1 obișnuit, dar sînt calitativ diferite, ceea ce sugerează o sinteză în cantități mici a proteinelor α_2 (blocarea genei Hp^2) și Hp^0 în care nu apare haptoglobină. Fenotipurile J (de la Johnson) și Ca figurate sînt ceva mai greu de interpretat deocamdată (fig. III, 5).

V. REGLAREA BIOSINTEZEI PROTEINELOR ȘI INDIVIDUALITATEA BIOCHIMICĂ

Așa după cum am mai amintit, o lipsă de activitate pentru una dintre enzimele cunoscute poate să fie explicată fie prin biosinteza unei proteine în așa chip alterată structural, încît nu mai este funcțională, fie printr-o mutație pe o genă de reglare care duce la o lipsă sau la o sinteză în cantități insuficiente. Exemple pot fi găsite între variantele amintite mai înainte.

La organismele superioare, procesele de reglare a biosintezei diverselor proteine îmbracă însă aspecte particulare. Prin procesele de diferențiere a anumitor țesuturi, genele sînt blocate uneori definitiv, în timp ce altele intră în activitate. Un exemplu tipic ar fi înlocuirea hemoglobinei de tip embrionar cu cea de tip fetal $F\alpha_2^A\gamma_2$ și a acesteia cu cea de tip adult Hb $A\alpha_2^A\beta_2^A$, prin intrarea secvențială în acțiune a genelor pentru lanțurile de tip γ și apoi pentru β concomitent cu blocarea predecesoarelod (ε și γ). Se cunosc foarte multe enzime a căror sinteză este încă deficitară sau chiar absentă la copilul nou-născut. De exemplu, sistemul enzimatic de conjugare a bilirubinei în ficat este deficitar la naștere, dar în scurt timp (cîteva săptămîni) atinge nivelul adultului. În cazul copiilor născuți prematur, deficiența acestui sistem enzimatic este mult mai marcată, ceea ce duce la un icter neonatal cu hiperbilirubinemie de tip indirect (bilirubină neconjugată), prelungit, iar în cazul asocierii unei eritroblastoze cu hemoliza consecutivă (incompetență de Rh), consecințele vor fi deosebit de severe.

Legat de aspectele diferențierii este prezența în ser a unei fosfataze alcaline produse de placentă. În ultimul timp această enzimă se bucură de o atenție deosebită. S-a reușit să se obțină anticorpi antienzimă specifici, cu ajutorul cărora se precipită selectiv fosfataza alcalină placentară din serul gravidelor, astfel încît poate fi calculată proporția din activitatea totală adusă de această izoenzimă. În acest mod s-a putut constata că ea apare în ser încă din primul trimestru de sarcină, concentrația crește apoi treptat ajungînd la 70% din activitatea totală a serului în următoarele două semestre. În cazul în care fătul moare intrauterin, se constată destul de curînd o descreștere a nivelului izoenzimei (44).

Un aspect deosebit de interesant al blocării anumitor gene îl constituie fenomenul de inactivare a unuia din cromozomii X în celulele feminine (care au doi cromozomi X). Acest lucru a fost presupus prima dată de Lyon (cit. 42). Cromozomul inactivat poate fi oricare din cei doi prezenţi la început, astfel că în unele celule va rămîne funcţional unul, iar în altele celălalt. Acest lucru a putut fi dovedit între altele şi cu ajutorul variantelor enzimatice a căror genă se găseşte pe cromozomul X.

La femeile heterozigote pentru deficienţă în glucozo-6-fosfatdehidrogenază există două populaţii de celule, unele cu enzimă deficitară, altele cu enzimă normală după cromozomul X inactivat (cit. 6). Două populaţii de celule au fost găsite similar pentru femeile heterozigote, pentru un anumit tip de agammaglobulinemie (cit. 5) şi pentru o variantă a hipoxantinguaninfosforibozitransferazei (42).

În afara acestor mecanisme specifice organismelor superioare se cunosc la om o serie de enzime care pot fi induse similar cu inducţia enzimelor la bacterii. Încă de mult se ştie, de exemplu, că biosinteza enzimelor digestive este condiţionată de prezenţa substratelor respective în alimentaţie (atenţie în cazul schimbării dietei). Fenomenul de inducţie a putut fi dovedit de asemenea pentru unele enzime care metabolizează medicamentele.

Un caz deosebit de interesant de inducţie a fost descris de către Welch şi colab. (32). Este vorba despre inducţia unei enzime care hidroxilează 3,4-benzpirenul ca răspuns la fumat. Dozarea activităţii enzimei a fost făcută comparativ în placenta femeilor fumătoare şi a celor nefumătoare. S-a observat că această activitate lipseşte în placentele nefumătoarelor, în timp ce la fumătoare era prezentă, deşi într-un grad diferit de la caz la caz. Deoarece 3,4-benzpirenul este o hidrocarbură, a cărei capacitate cancerigenă este cunoscută, iar derivatul său hidroxilat este cu mult mai puţin periculos, inducţia acestei enzime poate fi privită ca un mecanism de apărare. Gradul diferit de inducere a enzimei de la individ la individ ar putea să explice susceptibilitatea mai mare sau mai mică la cancerigen.

BIBLIOGRAFIE

1. Aebi H. E. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, 36, 271.
2. Arends T., Gallango M. L., Layrisse M., Wilbert J., Heinen H. D. — *Blood*, 1969, 33, 414.
3. Azevedo E. S., Yoshida A. — *Nature*, 1969, 222, 380.
4. Azen E. A., Smithies O. — *Science*, 1968, 162, 905.
5. Bearn A. G., Cleve H. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 1 321.
6. Beutler E., Baluda M. C. — *Lancet*, 1964, 1, 189.
7. Beutler E., Nathai C. K., Smith J. E. — *Blood*, 1968, 31, 131.
8. Blake N. M., Kirk R. L. — *Nature*, 1969, 221, 278.
9. Blake N. M., Kirk R. L., Pryke E., Sinnett P. — *Nature*, 1969, 221, 96.
10. Blumberg B. S., Martin J. R., Melartin L. — *J. Amer. Med. Ass.*, 1968, 203, 114.
11. Bockendal H., Ammon R. — Methods of Enzymatic Analysis, edit. H. U. Bergmeyer, Verlag, Chemie, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 771.

12. Boivin P., Galand C. — *Rev. franc. Étud. clin. biol.*, 1968, 13, 30.
13. Boulton F. E., Huntsman R. G., Lorkin P. A., Lehmann H. — *Nature*, 1969, 223, 832.
14. Bowman J. E., Carson P. E., Frischer H. — *Nature*, 1966, 210, 811.
15. Boyer S. H., Fainer D. C., Naughton M. A. — *Science*, 1963, 140, 1228.
16. Boyer S. H., Fainer D. C., Watson-Williams E. J. — *Science*, 1963, 141, 642.
17. Dern R. J., McCurdy P. R., Yoshida A. — *J. Lab. clin. Med.*, 1968, 283.
18. Feinstein R. N., Suter H., Jaroslow B. N. — *Science*, 1968, 159, 638.
19. Grollman E. F., Kobata A., Ginsburg V. — *J. clin. Invest.*, 1969, 48, 1 489.
20. Harris H., Hopkinson D. A., Luffman J. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 151, 232.
21. Harris H., Whittaker M. — *Nature*, 1961, 191, 496.
22. Harris H., Whittaker M. — *Ann. Human. Genet.*, 1963, 27, 53.
23. Hook E. B., Stamatoyannopoulos G., Yoshida A., Motulsky A. G. — *J. Lab. clin. Med.*, 1968, 72, 404.
24. Javid J., Yingling W. — *J. clin. invest.*, 1968, 47, 2 297.
25. Kalow W., Genest K. — *Canad. J. Biochem.*, 1957, 35, 339.
26. Kobata A., Grollman E. F., Ginsburg V. — *Arch. Biochem.*, 1968 124, 609.
27. Kraus A. P., Neely C. L. — *Science*, 1964, 145, 595.
28. Kueppers F., Briscoe W. A., Bearn A. G. — *Science*, 1964, 146, 1 678.
29. Lai L. Y. C. — *Nature*, 1968, 217, 1 186.
30. Lau T., Sunderman F., Agarwal S. S., Sutnick A. I., Blumberg B. S. — *Nature*, 1969, 221, 66.
31. Lehmann H., Liddell J. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill, New York, 1966, p. 1 356.
32. Luzzatto L., Afolayan A. — *J. clin. Invest.*, 1967, 47, 1 833.
33. Markert C. L. — Cytodifferentiaton and Macromolecular Synthesis, edit. M. Locke, Academic Press, New York — Londra, 1963, p. 65.
34. Nance W. E., Clafin A., Smithies O. — *Science*, 1964, 145, 595.
35. Neitlich H. W. — *J. clin. Invest.*, 1966, 45, 380.
36. Neumann S., Walter H. — *Nature*, 1968, 219, 950.
37. Parr C. W. — *Nature*, 1966, 210, 489.
38. Race C., Ziderman D., Watkins W. M. — *Biochem. J.*, 1968, 107, 733.
39. Rosen F. S. P., Charache J., Pensky J., Donaldson V. — *Science*, 1967, 148, 957.
40. Rosenbloom F. M., Kelley W. N., Henderson J. F., Seeghiller J. E. — *Lancet*, 1967, 2, 305.
41. Shaw C. R. — *Science*, 1964, 149, 936.
42. Smithies O. — *Advanc. Protein Chem.*, 1959, 14, 65.
43. Stanbury J. B., Wyngaarden J. B. Fredrickson D. S. — The Metabolic Basis of Inherited Diseases, edit. autorii citați, Ed. Mc. Graw-Hill, New York — Londra, 1966, p. 3.
44. Susman H. H., Bowman M., Lewis J. L. — *Nature*, 1968, 218.
45. Talalak P., Beutler E. — *Blood*, 1969, 33, 772.
46. Tashian R. E., Plato C. C., Shows T. B. J.r — *Science*, 1963, 140, 53.
47. Tashian R. E., Riggs S. K., Ya-Shiou L. Yu. — *Arch. Biochem.*, 1966, 117, 320.
48. Vesell E. S., Page J. G. — *Science*, 1968, 161, 72.
49. Vessel E. S., Page J. G. — *Science*, 1968, 159, 1 479.
50. Vesell E. S., Page J. G. — *J. Lab. clin. Invest.*, 1968, 47, 2 657.
51. Wartburg J.P. Von, Papenberg J., Aebi H. — Canad. *J. Biochem., Physiol.* 1965, 43, 889.
52. Welch C. E. — *Science*, 1968, 160, 541.
53. Westring D. W., Pisciotta A. V. — *Arch. intern. Med.*, 1968, 118, 385.

Capitolul al IV-lea

MUTAŢII, VARIANTE GENETICE ALE PROTEINELOR ŞI PROCESELE FILOGENETICE LA NIVEL MOLECULAR

I. Manta şi Gh. Jebeleanu

I. INTRODUCERE

Ideea abordării filogeniei folosind cunoştinţele acumulate de genetică nu este cîtuşi de puţin nouă. Despre asemenea încercări se poate vorbi încă de la începuturile celor două ştiinţe.

Se poate afirma însă că abia după fundamentarea principiilor biologiei moleculare, o asemenea interpretare a devenit riguros posibilă. Acest lucru era întrevăzut probabil atunci cînd Daewin vorbea despre o „selecţie naturală între molecule", pentru ca Huxley, continuatorul său să precizeze că „organismul ca întreg este produsul moleculelor care au învins, în aceeaşi măsură în care flora sau fauna unei ţări este produsul organismelor învingătoare".

Recunoaşterea rolului proteinelor ca instrumente ale activităţilor fundamentale din lumea vie şi a semnificaţiei lor de caractere ereditare elementare a condus la concluzia că modificări ale structurii acestora sînt cauza schimbărilor morfologice şi funcţionale suferite de organisme în filogenie. Variantele genetice dovedite astăzi pentru foarte multe proteine, la o mare diversitate de specii, indică calea interpretării moleculare a mecanismelor evolutive. Evident, modificările ereditare ale structurii proteinelor sînt consecinţa modificărilor — mutaţiilor — suferite de materialul genetic, acizi nucleici, care le determină. În ultimă instanţă, proprietăţile oricărui organism depind de structura moleculelor acizilor nucleici şi a proteinelor pe care le conţin; tocmai de aceea aceste tipuri de molecule sînt cuprinse sub termenul general de „molecule informaţionale" sau „semantice".

Pentru ca o modificare oarecare să fie menţinută în timpul evoluţiei, ea trebuie să prezinte la un moment dat un avantaj fiziologic sau cel puţin să nu fie dezavantajoasă comparativ cu structura obişnuită. Din discutarea diverselor variante ale enzimelor şi ale altor proteine la om, cititorul a putut constata că o foarte mare parte sînt puţin diferite de corespondentele lor normale, unele duc la dezavantaje fiziologice manifestate ca „erori înnăscute

de metabolism" sau „boli moleculare", numai în anumite condiții de mediu, sau pentru altele indiferent de condiții și, în sfîrșit, pentru un număr mic de variante se poate vorbi aparent de un „avantaj fiziologic" al indivizilor care le posedă. Dată fiind complexitatea organismelor superioare și a interrelațiilor lor cu mediul, este însă foarte greu de precizat, așa cum se va vedea din cuprins, ce anume putem considera un „avantaj funcțional".

Modificarea minimă pe care o poate suferi o proteină este, așa după cum s-a arătat de mai multe ori în cuprinsul capitolelor de biologie moleculară, înlocuirea unui aminoacid din secvență cu altul, consecință a ceea ce se numește „mutație punctiformă". Pe lîngă acest tip au fost prezentate proteine din a căror secvență s-au pierdut cîțiva aminoacizi, tip de modificare cunoscută sub numele de deleție sau inversul acesteia, introducerea de aminoacizi în plus față de secvența obișnuită — inserție. Compararea proteinelor cu aceeași activitate enzimatică (sau alt tip de activitate) de la specii diferite a relevat modificări asemănătoare în secvențele de aminoacizi cu cele între variantele genetice ale aceleiași proteine în cadrul speciei, desigur într-o proporție mai mare.

Asemănarea de structură a proteinelor active la diverse specii, asemănare ce atinge un grad remarcabil uneori, este o dovadă în plus a unității lumii vii și indică o origine comună filogenetică. Pe lîngă acest tip de asemănări și deosebiri între alcătuirea proteinelor la viețuitoare se poate observa și altul, foarte probabil mult mai important pentru filogenie. În numeroase cazuri se observă cum unei singure proteine găsite la o specie inferioară îi corespund mai multe proteine la speciile evoluate, toate asemănătoare ca secvență în diferite grade. Este o indicație despre un proces mai complex de „multiplicare" a unei structuri unice originare, proces care poate fi reprezentat cel mai simplu sub forma unei „duplicări". Prin duplicarea matrițelor de ADN se dă posibilitatea evoluției mutaționale independente a duplicatului, adică a unei secvențe de aminoacizi într-o proteină, paralel cu menținerea matriței inițiale și deci a secvenței originare. Duplicările și mutațiile duc la existența în lumea vie a unei multitudini de proteine similare ca secvență de aminoacizi (omologe), cu grade diferite de asemănare funcțională (analogie) (45). Putem grupa astfel, după gradul de omologie a secvenței, specii, genuri, familii, ordine etc. de proteine. O asemenea clasificare nu se suprapune desigur peste clasificarea organismelor din biologie, deoarece are un scop diferit, cu toată asemănarea de principiu. Ea reprezintă un prim pas în urmărirea istoriei unei gene în evoluție, tot așa cum clasificarea taxonomică servește stabilirii înrudirilor între organisme. Pentru a putea stabili cu certitudine schema evolutivă a speciilor biologice, ar trebui comparate toate secvențele proteinelor din organismele analizate (sau cel puțin un număr suficient de mare) cu cele ale organismului originar (respectiv a descendenților direcți ai acestuia), făcînd totodată o integrare funcțională și morfologică, ceea ce evident depășește posibilitățile actuale. Cu toate acestea, istoria genelor individuale marchează evenimente importante în evoluție, caracteristică utilă studiilor de clasificare biologică (69).

Evident, cu cît o secvență de aminoacizi a evoluat independent, un timp mai îndelungat, de cea din care a provenit, cu atît deosebirile vor fi mai

mari. De aceea putem presupune că în cazul a două proteine omologe, cu cît deosebirile vor fi mai mari, cu atît ancestorul comun lor, va fi mai vechi.

Cum avantajul sau dezavantajul unei modificări de secvență se evidențiază prin modificările activității proteinei este de presupus că „presiunea selecției naturale" se aplică asupra structurilor tridimensionale ale proteinelor care, după cum se știe din biologia moleculară, determină funcția. În cazul sistemelor biologice este de presupus că există foarte multe căi de exercitare a acestei presiuni selective. Pe de o parte, cele mai simple, cum ar fi disponibilitatea substratelor sau prezența unor inhibitori în mediu extern cu care comunică, iar pe de altă parte, căi mai complicate, rezultate din interacțiunea între macromoleculele active. Interacțiunile pot să fie directe sau indirecte. Cazul cel mai simplu din interacțiunea directă este cel al asocierii mai multor lanțuri polipeptidice, fiecare cu o anumită configurație, pentru a da o moleculă proteică, altul, ceva mai complicat, a mai multor proteine într-un complex. Interacțiunile indirecte sînt reprezentate prin dependența în cadrul lanțurilor metabolice a funcției unei enzime de cele ale enzimelor din același ciclu și prin conexiunile datorite proprietăților alosterice cu metaboliți furnizați de alte enzime sau alte sisteme enzimatice. Deși este o enumerare sumară, se poate vedea că modificarea unei secvențe proteice este supusă unui „control evolutiv" sever și multiplu.

Pentru început ne vom ocupa de felul în care ia naștere diversitatea proteinelor, respectiv cu procesele mutaționale și de multiplicare a materialului genetic, pentru a putea trece apoi la ce anume este selectat din aceste consecințe și în final la o încercare de integrare a cunoștințelor.

II. MODIFICĂRILE MATERIALULUI GENETIC

Mutația punctiformă este modificarea minimă posibilă și constă din înlocuirea unei baze din secvența ADN cu alta (evident, prin reduplicarea dublei elici se ajunge la descendenți și la înlocuirea perechii acesteia din lanțul complementar). Este de remarcat că, datorită degenerării codului genetic (mai mulți codoni pentru același aminoacid), nu orice înlocuire de baze are drept consecință obligatorie modificarea secvenței de aminoacizi în polipeptida codificată. De fapt, ne putem imagina o înlocuire de baze, în special în poziția 3 a codonului, care nu face altceva decît să-l transforme în unul din ceilalți codoni pentru același aminoacid. Putem deosebi două situații în înlocuirile de baze (24):

1. Înlocuirea unei baze purinice cu altă bază purinică sau a unei pirimidine cu o altă pirimidină, așa-numita tranziție.

Se consideră în general că mecanismele pentru apariția tranzițiilor sînt cele mai probabile în mutațiile punctiforme. Acest gen de mutații a fost evidențiat prin acțiunea a o serie de agenți mutageni chimici (5-Br-dezoxiuridina, HNO_2, 2-aminopurină, hidroxilamină, agenți alchilanți etc.) și este de presupus în cazul mutațiilor spontane, formele tautomere rare ale bazelor respective enol și imino, ducînd la împerecheri greșite A—C și G—T.

2. Înlocuirea unei pirimidine cu oricare din purine sau a unei purine cu oricare din pirimidine, mecanism numit transversie.

MODIFICAREA SECVENȚEI AMINOACIZILOR ÎN LIZOZIMUL PRODUS DE BACTERIOFAGUL T4 PRIN DELEȚII ȘI INSERȚII

Poziția aminoacizilor în secvență:	1 2 3 4 5 6	34 35 36 37 38 39 40 41 42
Secvența în lizozimul produs de bacteriofagul T4 originar (sălbatic):	Met-Asn-Ile-Fen-Glu- - - -Met	Tre-Liz-*Ser-Pro-Ser-Leu-Asn*-Ala-Ala-
Secvența codonilor în mARN regiunii respective pentru lizozimul produs de bacteriofagul sălbatic:	AUG ↗ AAU AUC ↑ UUU GAA inserție (G) (AU) inserție	-(A) ↑ GU-CCA-UCA-CUU-AAU ↑ -GG deleție inserție
Secvența codonilor în mARN regiunii respective pentru lizozimul produs de unul din mutanții dubli cu o inserție și o deleție învecinate:	AUG GAA UAU AUC UUU GAA	-GUC-GAU-CAC-UUA-AUG-GC
Secvența aminoacizilor în lizozimul produs de bacteriofagul T4 dublu mutant:	Met-Glu-Tir-Ile-Fen-Glu . . . Met 1 2′ 2″ 3 4 5 6	Tre-Liz-*Val-His-His-Leu-Met*-Ala-Ala

Fig. IV, 1. Mutații cu „schimbarea cadrului de citire" în genal izozimului de la bacteriofagul T 4. Se indică două regiuni din secvența polipeptidică, codonii corespunzători, deleția sau inserția care schimbă gruparea în codonii și inserțiile care „aduc la loc" ulterior cadrul de citire [*după A. Tsugita și colab.* (47, 61)].

În lipsa pentru moment a unor dovezi directe, respectiv a secvențelor de baze în ADN pentru cazurile în discuție, existența acestor mutații este susținută de posibilitatea interpretării majorității secvențelor observate în proteinele mutante (variantele genetice) (46) sau într-un număr mai mare din proteinele omologe de la specii diferite (24, 25). Astfel, de exemplu, înlocuirea histidinei din poziția 63 a lanțurilor β cu o tirozină în Hb. M. Saskatoon, poate fi explicată printr-o tranziție, codonii[1] (ARN) respectivi fiind CAU și *U*AU. Există însă și cazuri cînd sîntem nevoiți să presupunem o transversie. Un exemplu ar fi înlocuirea acidului glutamic din poziția 6 a lanțurilor β cu o valină în „clasica" HbS, codonii respectivi (ARN) fiind *GAG* și *GUA*. Un exemplu deosebit de demonstrativ este cel al mutanților de triptofansintetază, studiați de C. Yanofsky și colab. (65) și amintiți de noi (fig. IV, 1)

Așa cum era de așteptat, în cazul proteinelor omologe de la specii diferite, este adesea necesar să presupunem două sau trei mutații punctiforme succesive pentru a ajunge de la un codon la celălalt. Prin urmare, mutația punctiformă ca unitate de modificare ne poate indica distanța în timp între două proteine omologe; mai mică în cazul variantelor de la aceeași specie, mai mare, așa cum o indică numărul de schimburi de baze necesare pentru explicarea diferențelor de secvențe în polipeptide, în cazul proteinelor omologe de la specii diferite.

O mențiune deosebită se face pentru acele mutații care duc la apariția unor codoni ARN *„non sens"* respectiv: UAG (numit „amber"), UAA („ochre") și UGA (tabelul IV, 1). Ei servesc drept codoni de terminare a traducerii mARN în secvențe de aminoacizi. Se cunosc la bacterii și virusuri o serie de mutanți, în care apariția prematură a acestor codoni în mARN diferitelor proteine duce la terminarea înainte de capătul C terminal al secvenței polipeptidice, corespunzător cu locul apariției unui *„non sens"*.

Existența unor asemenea mutanți a permis, de exemplu, stabilirea pentru proteina de înveliș a bacteriofagului T. 4 coliniaritatea genei cu produsul ei (aminoacizii sînt reprezentați în genă în aceeași ordine în care se succed în polipeptidă) (56). Consecințele unui *„non sens"* pot fi corectate prin așa-numitele mutații supresoare, ce conduc la apariția unor variante de tARN care pot „recunoaște" acești codoni, inserînd un aminoacid în poziția respectivă (27).

Cum enzimele sînt codificate în unități de transcriere a ARN mesager, operonii (41), un *„non sens"* pe una din gene afectează experimentarea tuturor celor care urmează, evident, cu atît mai puternic, cu cît se găsesc mai aproape de cea afectată (efectul de polaritate) (cit. 27). Nu este exclus ca prin mutații asemănătoare să fie modificat codonul de inițiere (la bacterii AUG), cu care se crede că începe orice mARN. În acest caz nu se va putea iniția biosinteza proteinei. Nu se cunosc pentru moment mutații *„non sens"* sau pentru codonul de inițiere la organismele superioare.

---

[1] Deoarece codul genetic a fost stabilit prin lucrările lui H. G. Khorana și colab. și M. Nirenberg și colab. în triplete de ARN mesager, se obișnuiește indicarea codonilor sub această formă. Pentru aflarea secvenței în ADN este necesar să se înlocuiască bazele din ARN cu perechile lor din lanțul codificant de ADN, respectiv: A cu T; G cu C; U cu A; C cu G.

Deleţiile şi inserţiile sînt un alt tip de mutaţii, care duc la pierderea (deleţia) sau inserţia bazelor din secvenţa ADN. Se pot deosebi două situaţii:

1. Deleţia sau inserţia unui codon sau mai multor codoni.

Urmarea unor asemenea modificări este evident pierderea, respectiv introducerea, în secvenţa polipeptidică a aminoacizilor codificaţi de codonii în

TABELUL IV, 1

Codonii ARN pentru aminoacizi

(după H. G. Khorana şi M. Nirenberg)

Baze					
Prima (5')	A doua				A treia (3')
	U	C	A	G	
U	Fen	Ser	Tir	Cis	U
	Fen	Ser	Tir	Cis	C
	Leu	Ser	Ochre	*„opal"*	A
	Leu	Ser	Amber	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Tre	Asn	Ser	U
	Ile	Tre	Asn	Ser	C
	Ile	Tre	Liz	Arg	A
	Met (Iniţiere)	Tre	Liz	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gli	U
	Val	Ala	Asp	Gli	C
	Val	Ala	Glu	Gli	A
	Val	Ala	Glu	Gli	G

cauză. Asemenea consecinţe sînt reprezentate, de exemplu, prin hemoglobinele Freiburg şi Gun Hill, discutate într-un capitol anterior şi sînt de presupus în proteinele omologe din cadrul aceleiaşi specii, cum ar fi lanţul β al hemoglobinei umane şi lanţurile γ, δ şi înspre capătul N terminal (8), pentru chimotripsina B şi tripsina de la bovidee (59), corespondenţa între lanţurile k şi λ ale imunoglobinelor umane (53) sau de la specii diferite, citocromii c (42), proteaze (45), gliceraldehid-3-fosfatdehidrogenază (16).

2. Deleţia sau inserţia unei baze din ADN (în general a unei secvenţe de baze care nu se suprapun peste gruparea în codoni).

Acest gen de modificare duce la consecinţe deosebit de serioase, deoarece prin modificarea secvenţei de baze se schimbă gruparea acestora în codoni, ceea ce duce la o modificare a „cadrului de citire" normal.

Posibilitatea de refacere a cadrului de citire este dată în cazul inserţiei unei baze de deleţia alteia apropiate (şi reciproc), aşa cum a indicat F.H.C. Crick (cit. 27), ceea ce duce la o proteină „greşită" pe o distanţă limitată. O altă posibilitate este, în cazul unei inserţii, o a doua mutaţie care duce la in-

serţia încă a două baze în vecinătate (aceeaşi situaţie este valabilă şi pentru deleţii). Consecinţa unor asemenea corectări este apariţia de aminoacizi în plus inseraţi în secvenţa polipeptidei (respectiv de pierderea unor aminoacizi în cazul deleţiilor) (fig. IV, 2). Nu se cunosc încă asemenea consecinţe pentru

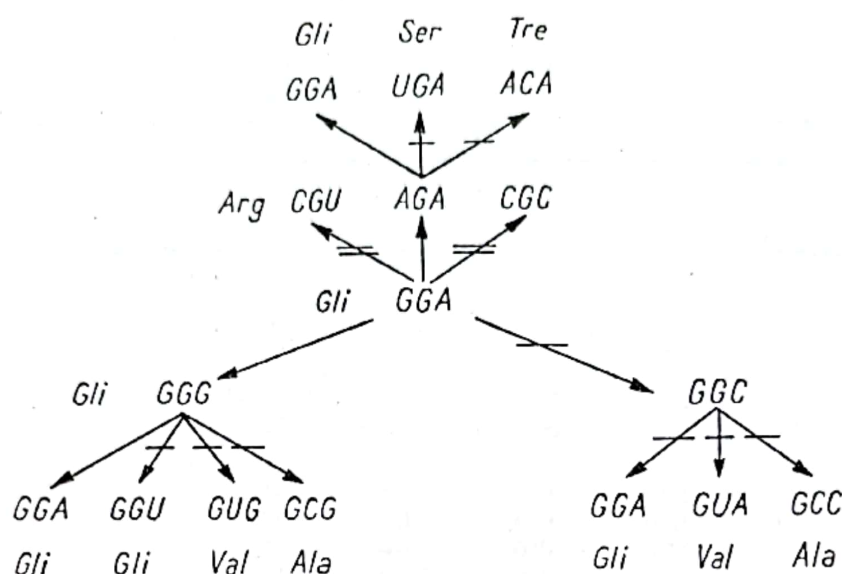


Fig. IV, 2. Mutaţii prin înlocuiri de baze în codonul glicocolului 210 din secvenţa proteinei A a triptofansintetazei la *Esch. coli.* Săgeţile simple indică tranziţii, cele barate cu o linie, transversii, iar cele cu două linii, mutaţii ce necesită modificarea a mai multe baze din codon [*după C. Yanofsky şi colab.* (66), *modificat*].

proteinele organismelor superioare, deşi, cu siguranţă, trebuie să existe, singura dovadă directă fiind cîţiva mutanţi ai bacteriofagului T 4 (fig. IV, 2).

În mod teoretic se poate presupune că ar trebui să existe şi un tip de mutaţie numit „inversie". Pare mai probabil ca, în cazul în care admitem posibilitatea unei inversări a secvenţei bazelor, acest lucru să se petreacă printr-un schimb între lanţurile moleculei de ADN, acest lucru fiind impus de antiparalelismul lanţurilor (orientarea diferită a legăturilor 3′—5′ fosfodiester ce leagă nucleotidele) (fig. IV, 3).

În afara acestor modificări, pentru care avem motive să presupunem că joacă un rol important în diversificarea proteinelor şi deci în evoluţie, există şi altele, ale căror consecinţe sînt adesea prea marcate şi ar avea consecinţe „predominant letale" (25) (fig. IV, 3). Unele din aceste posibilităţi au fost evidenţiate în cazul agenţilor mutageni. Astfel, tratarea ADN cu anumiţi agenţi alchilanţi duce la pierderi de baze cu întreruperea şi destabilizarea dublului helix. Formarea de dimeri între timine a fost observată în cazul acţiunii razelor ultraviolete. Sudarea celor două lanţuri de ADN este mecanismul propus pentru acţiunea acridinei, iar ruperi ale lanţurilor, pentru porţiuni mai scurte sau mai lungi, au fost adesea observate ca rezultat al acţiunii razelor Röntgen.

Presupunerea că aceste modificări ar fi predominant letale atrage după sine şi o a doua şi anume, că există mecanisme de apărare împotriva unor

asemenea posibilităţi. De fapt, pînă acum au fost descrise două tipuri de enzime care „repară" alterările din această grupă. Una dintre acestea este enzima de fotoreactivare descrisă de C. S. Rupert (cit. 25). Enzima se combină cu ADN iradiat cu raze ultraviolete, formînd un complex care disociază prin ilu-

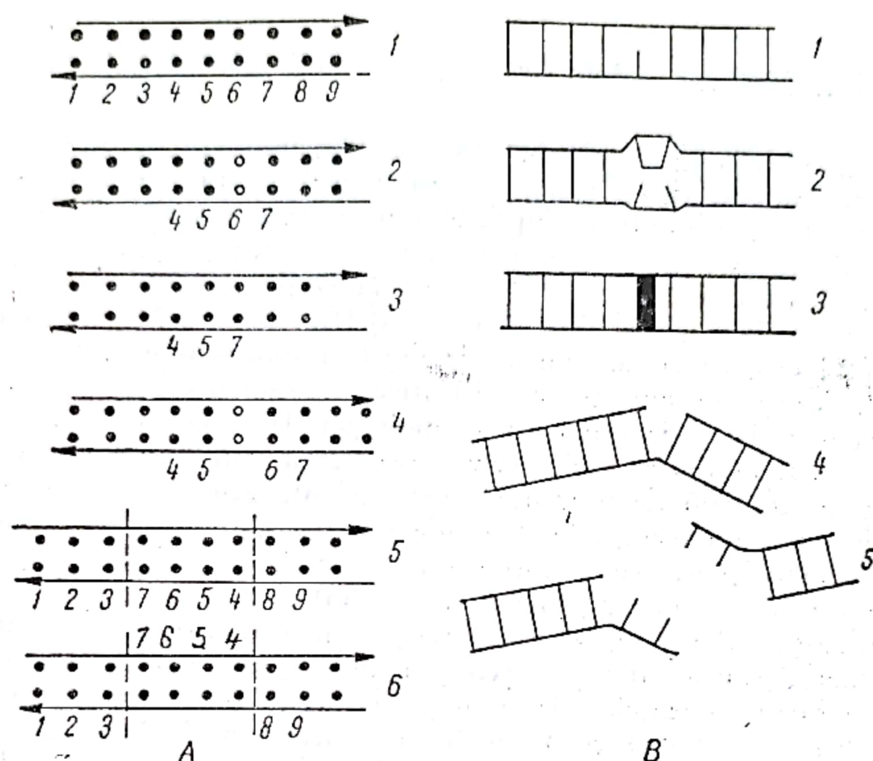


Fig. IV. 3. A — Mutaţii preponderent „evolutive":
1 — ADN originar; 2 — înlocuirea unei baze; 3 — deleţia unei baze; 4 — inserţia unei baze; 5 — inversie după unul din mecanisme; 6 — inversie după mecanismul care ţine cont de antiparalelismul lanţurilor în molecula ADN (vezi sensul săgeţilor).

B — Mutaţii preponderent letale:
1 — bază neîmperecheată; 2 — formare de dimeri; 3 — legături covalente între lanţuri; 4 — ruperea unui lanţ 5 — ruperea ambelor lanţuri

[*după E. Freese* (24, 25), *modificat*].

minare la 370 m μ, cu eliberarea timinelor din dimeri. Cealaltă enzimă, descrisă simultan în mai multe laboratoare, este un tip de ADN — polimerază, care reface întreruperile lanţurilor, cu condiţia să găsească în regiunea respectivă un lanţ pereche întreg (cit. 25).

Se poate obiecta că mecanismele descrise au fost evidenţiate prin procedee mutaţionale experimentale şi că interpretarea lor este extrapolată la variante întîlnite în natură. Deşi contribuţia agenţilor mutageni poate fi însemnată în cauzele naturale ale mutanţilor, o importanţă deosebită o are un fenomen principal diferit. Similar cu ceea ce se întîmplă în orice activitate, ADN — polimeraza — enzima care duplică ADN înzestrînd descendenţii cu copiile necesare — are o „rată de greşeli", care este o proprietate inerentă enzimei şi similar cu celelalte proprietăţi depinde de structura sa, structură transmisă la rîn-

dul ei ereditar. S-au putut izola astfel celule bacteriene cu o ADN-polimerază cu o frecvență mare de greșeli și altele cu o frecvență mică. Greșelile acestei enzime duc la diversitatea celulelor individuale și putem presupune că există o structură optimă pentru „rata de greșeli" a enzimei care condiționează apariția variantelor necesare „adaptării" la mediul înconjurător (18).

III. DUPLICAREA GENELOR, SECVENȚE REPETITIVE ÎN ADN

Secvențele de aminoacizi, deosebit de asemănătoare în polipeptide, aparținînd unor proteine diferite din același organism, au făcut să se imagineze în mod teoretic posibilitatea, duplicarea unei gene (sau unui grup de gene), copiile fiind păstrate în același genom. O asemenea propunere a fost făcută pentru prima dată de V. Ingram pentru lanțurile m (de la mioglobină), α, β, γ și δ ale hemoglobinelor umane (36) (fig. IV, 5). Mecanismul părea cu atît mai probabil, cu cît se cunosc de mult cromozomii giganți de la diptere (cit. 41), alcătuiți din sute de gene identice păstrate în aceeași celulă. Prin perfecționarea metodelor de urmărire a omologiei de secvență, acest mecanism a putut fi propus în foarte multe cazuri. Prezența unor gene în copii multiple este susținută totodată de prezența unor variante genetice pentru același lanț polipeptidic (care nu segregă la descendenți), așa cum este cazul pentru lanțurile Hb. F umane și pentru lanțurile din Hb. de la șoareci (cit. 58) sau pentru variantele Oz ale lanțurilor ușoare umane (53). Odată duplicate, copiile aceleiași gene, inițial alăturate, se pot distanța prin procese de rearanjare a materialului genetic (translocări). Un exemplu ar fi apropierea bine stabilită astăzi (prin compararea secvențelor de aminoacizi, ca și prin alte fapte) între genele lanțurilor hemoglobinei β și δ de la om, care s-au duplicat recent, față de distanța mare la care se găsesc lanțurile α, din precursoarea căreia au provenit prin duplicări îndepărtate în timp (46, 67).

Mecanismele prin care se ajunge la duplicarea unei gene ancestrale cu păstrarea copiei nu sînt pentru moment, suficient de clare, deși nu încape îndoială că trebuie să existe. Sugestii despre acestea pot fi sugerate de citogenetica clasică (cit. 46) și de prezența unor variante genetice pentru anumite proteine, în care secvența de aminoacizi este fie mai lungă, fie mai scurtă decît cea obișnuită.

Mecanismul de alungire-scurtare a genelor. S-au descris la om pînă în prezent trei tipuri de hemoglobine anormale, principial diferite de restul tipurilor de variante pentru această proteină. Este vorba de trei hemoglobine (Boston, Hollandia și Baltimore) (5) (cit. 46, 48), Hb. Lepore, în care în locul lanțurilor β și δ obișnuite se găsesc un singur tip de lanțuri „hibride" cu partea N terminală provenită din δ și cea C terminală din β. Proveniența lor se explică prin *crossing over*-uri aberante între genele β și δ, acolo unde secvența bazelor în ADN este asemănătoare. Fenomenul este favorizat de vecinătatea celor 2 gene, așa cum s-a amintit mai sus. După cum rezultă din figura IV, 4, aceste lanțuri sînt mai scurte decît β sau δ normale cu, respectiv 29, 28, și 36 de aminoacizi pierduți (deleție) prin *crossing over*-ul abe-



rant. Acestor lanţuri Lepore ar trebui să le corespundă lanţurile „surori“ anti-Lepore, care evident ar fi mai lungi cu numărul corespunzător de aminoacizi, pierduţi de primele. Cum însă prin procesele de meioză se pierde una din garniturile de cromozomi iniţială, este uşor de înţeles (dată fiind raritatea variantelor Lepore) de ce nu au fost găsiţi indivizi care să le poarte. În cazul unei alte proteine umane, consecutiv unui mecanism aparent similar, au fost găsite

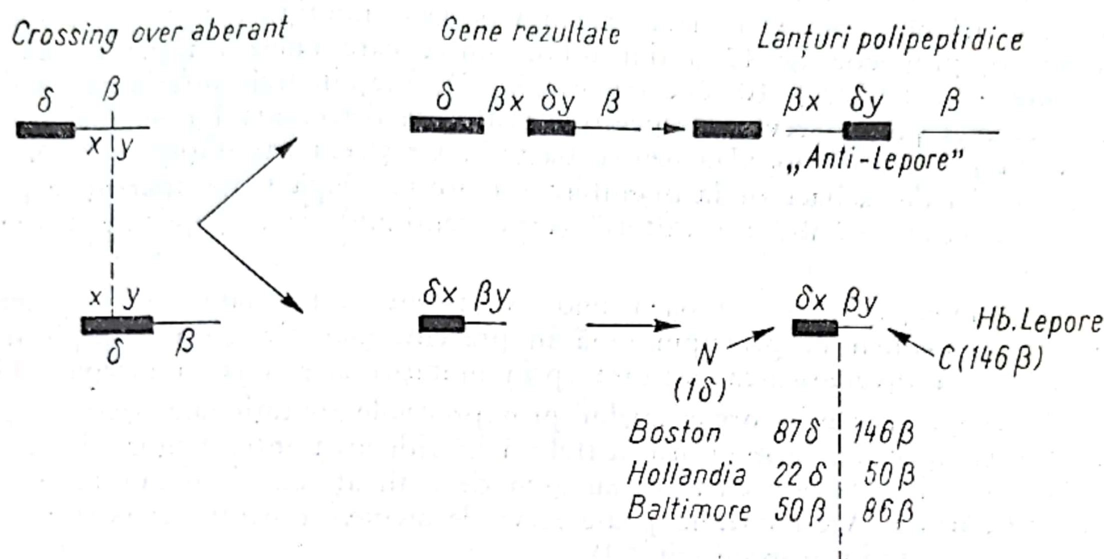


Fig. IV, 4. Mecanismul prin care apar lanţurile non-α în Hemoglobinele Lepore. De remarcat *crossing*-over aberant între porţiunile notate cu *x* şi *y* [*după C. Baglioni* (5), *modificat*].

din contra numai variantele cu lanţuri sudate mai lungi. Este vorba despre subunităţile α_2 din tipurile de haptoglobine Hp. 2 (6), unde este vorba de o cvasidublare a secvenţei de aminoacizi a lanţurilor α obişnuite sau de o triplare la subunităţile J α_2, prin unirea (aproape în întregime) a 2, respectiv 3 lanţuri α (cit. 46) (fig. IV, 10). Deşi *crossing over*-ul aberant poate explica secvenţe repetative într-un lanţ polipeptidic, el nu poate da socoteală de apariţia a 2 gene din una singură. Pentru aceasta este necesar să presupunem intervenţia ulterioară a unor mutaţii de tipul celor discutate, care să conducă la apariţia codonilor de terminare (*„non-sens“*) şi a celor de iniţiere în (sau aproape de) locul de început al repetiţiei. Exemple de felul celor două amintite vor fi menţionate cu ocazia discutării unor proteine individuale. Acest gen de fapte postulează teoretic necesitatea prezenţei unor gene multiple pentru lanţuri polipeptidice identice sau foarte asemănătoare ca secvenţă la organismele superioare (omologie intraspecie).

Este de aşteptat ca dovezile să fie cu atît mai semnificative, cu cît se studiază “semantide“ cu conţinut informaţional mai mare, respectiv acizii nucleici şi în special ADN, materialul din care sînt formate nemijlocit genele. Desigur, ideal ar fi să se cunoască secvenţa de baze în ADN celulelor, dar cum acest lucru nu este posibil momentan, din raţiuni tehnice, investigaţiile au fost făcute prin alte mijloace de abordare.

Astfel, faptul că prin încălzire dublele elici ale moleculelor de ADN izolate de la diferite specii de vieţuitoare pot să se desfacă şi să se refacă prin răcire treptată, a furnizat un mijloc deosebit de eficace pentru studiu.

Evident, cu cît lanţurile îşi vor găsi mai uşor în amestecul de reacţie parteneri complementari, în cazul existenţei de secvenţe de baze repetative, cu atît refacerea de duble elici va decurge mai repede. Calculele cineticii de refacere a dublelor elici au indicat prezenţa de gene multiplicate (secvenţe repetative) în proporţie de 40% din total, dintre care unele (în jur de 20%) repetate între 10 000 şi 100 000 de ori (9, 10). Vieţuitoarele inferioare au din ce în ce mai puţine secvenţe repetative, astfel că detectarea lor nu mai poate fi făcută prin acest procedeu pentru bacterii. Creşterea cantităţii de ADN de 1 000 de ori de la bacterii la mamifere s-a produs după toate aparenţele prin procese (foarte probabil „în salturi" şi nu continuu) de multiplicare a genelor (44).

Se bănuieşte chiar, pe baza unor argumente întemeiate, că în general speciile au evoluat în principiu pînă în prezent, mai ales prin multiplicarea genelor şi că diversificarea acestora (prin mutaţii) este abia la început (44).

În timpul evoluţiei organismelor prin procesele mutaţionale, genele repetate, iniţial identice, se modifică, astfel că hibridizarea între lanţuri de ADN de la specii diferite este cu atît mai greu de realizat, cu cît organismele sînt mai îndepărtate. Acest criteriu poate servi de asemenea pentru indicarea gradului de înrudire între specii (cit. 63).

Separarea diverselor tipuri de ARN — „produsul imediat al genelor" — şi efectuarea unor studii asemănătoare cu formare de duble elici cu un lanţ ARN şi celălalt de ADN dă posibilitatea aprecierii numărului de reprezentări pentru secvenţa ARN respectiv. Asemenea experienţe făcute cu ARN ribozomiali, care pot fi izolaţi în stare pură, a permis să se stabilească că aceştia sînt codificaţi de gene multiplicate într-un grad cu atît mai mare, cu cît este vorba de un organism superior. Astfel, la bacterii, gradul de multiplicare pentru ARN ribozomial este între 10 şi 50 de ori, la Drosophila în jur de 130 de ori, iar la iepure de 1 500 de ori (cit. 62, 64). Aplicînd procedee similare de hibridare, dar între lanţuri ADN de la o specie şi ARN de la altă specie, se poate aprecia gradul de omologie între ARN, produşi de genomurile respective. Evident, rezultatele obţinute au arătat o diversitate cu atît mai mare, cu cît speciile organismelor erau mai diferite. Deosebit de semnificativ este însă faptul că în stadiile timpurii ale embriogenezei, ARN izolat de la specii diferite, hibridiza aproape la fel de bine cu ADN-ul speciei comparate ca şi cu cel propriu (65). Aceasta este o primă indicaţie că ARN şi deci şi proteinele codificate în aceştia sînt cu atît mai asemănătoare între ele, cu cît organismul este într-un stadiu de ontogeneză mai timpurie. Cu alte cuvinte se poate afirma că avem o primă dovadă în biologia moleculară a celebrei teze a lui E. Haekel, după care „ontogenia repetă filogenia" (38).

Semnificaţia majoră a avantajelor evolutive furnizate de multiplicarea genelor deja amintită va fi subliniată într-un capitol următor. O dată stabilit faptul că acest fenomen este o realitate, ne putem propune urmărirea diversificării treptate a seturilor de gene repetative.

Astfel, faptul că prin încălzire dublele elici ale moleculelor de ADN izolate de la diferite specii de vieţuitoare pot să se desfacă şi să se refacă prin răcire treptată, a furnizat un mijloc deosebit de eficace pentru studiu.

Evident, cu cît lanţurile îşi vor găsi mai uşor în amestecul de reacţie parteneri complementari, în cazul existenţei de secvenţe de baze repetative, cu atît refacerea de duble elici va decurge mai repede. Calculele cineticii de refacere a dublelor elici au indicat prezenţa de gene multiplicate (secvenţe repetative) în proporţie de 40% din total, dintre care unele (în jur de 20%) repetate între 10 000 şi 100 000 de ori (9, 10). Vieţuitoarele inferioare au din ce în ce mai puţine secvenţe repetative, astfel că detectarea lor nu mai poate fi făcută prin acest procedeu pentru bacterii. Creşterea cantităţii de ADN de 1 000 de ori de la bacterii la mamifere s-a produs după toate aparenţele prin procese (foarte probabil „în salturi" şi nu continuu) de multiplicare a genelor (44).

Se bănuieşte chiar, pe baza unor argumente întemeiate, că în general speciile au evoluat în principiu pînă în prezent, mai ales prin multiplicarea genelor şi că diversificarea acestora (prin mutaţii) este abia la început (44).

În timpul evoluţiei organismelor prin procesele mutaţionale, genele repetate, iniţial identice, se modifică, astfel că hibridizarea între lanţuri de ADN de la specii diferite este cu atît mai greu de realizat, cu cît organismele sînt mai îndepărtate. Acest criteriu poate servi de asemenea pentru indicarea gradului de înrudire între specii (cit. 63).

Separarea diverselor tipuri de ARN — „produsul imediat al genelor" — şi efectuarea unor studii asemănătoare cu formare de duble elici cu un lanţ ARN şi celălalt de ADN dă posibilitatea aprecierii numărului de reprezentări pentru secvenţa ARN respectiv. Asemenea experienţe făcute cu ARN ribozomiali, care pot fi izolaţi în stare pură, a permis să se stabilească că aceştia sînt codificaţi de gene multiplicate într-un grad cu atît mai mare, cu cît este vorba de un organism superior. Astfel, la bacterii, gradul de multiplicare pentru ARN ribozomial este între 10 şi 50 de ori, la Drosophila în jur de 130 de ori, iar la iepure de 1 500 de ori (cit. 62, 64). Aplicînd procedee similare de hibridare, dar între lanţuri ADN de la o specie şi ARN de la altă specie, se poate aprecia gradul de omologie între ARN, produşi de genomurile respective. Evident, rezultatele obţinute au arătat o diversitate cu atît mai mare, cu cît speciile organismelor erau mai diferite. Deosebit de semnificativ este însă faptul că în stadiile timpurii ale embriogenezei, ARN izolat de la specii diferite, hibridiza aproape la fel de bine cu ADN-ul speciei comparate ca şi cu cel propriu (65). Aceasta este o primă indicaţie că ARN şi deci şi proteinele codificate în aceştia sînt cu atît mai asemănătoare între ele, cu cît organismul este într-un stadiu de ontogeneză mai timpurie. Cu alte cuvinte se poate afirma că avem o primă dovadă în biologia moleculară a celebrei teze a lui E. Haekel, după care „ontogenia repetă filogenia" (38).

Semnificaţia majoră a avantajelor evolutive furnizate de multiplicarea genelor deja amintită va fi subliniată într-un capitol următor. O dată stabilit faptul că acest fenomen este o realitate, ne putem propune urmărirea diversificării treptate a seturilor de gene repetative.

IV. DIVERSIFICAREA GENELOR ŞI SELECŢIA PROTEINELOR CODIFICATE

Existenţa de gene duplicate pentru acelaşi lanţ polipeptidic dă posibilitatea evoluţiei libere a uneia din ele, prin acumulări succesive de mutaţii spre o perfecţionare a tipului de activitate de bază mai potrivită unor condiţii metabolice noi sau chiar de a evolua la o funcţie principial nouă. Mutaţiile genei originare vor fi selecţionate evident mai puternic decît a copiilor, dată fiind necesitatea păstrării activităţii în anumite limite.

Aceasta depinde, simplificînd lucrurile, după cum mutaţiile apar pentru aminoacizi îndepărtaţi structural de „centrul activ" sau pentru aminoacizii „cu rol catalitic direct" (45). Acest postulat are mai multe consecinţe:

a) Este de aşteptat ca într-un organism să se găsească mai multe tipuri de lanţuri polipeptidice cu aceeaşi activitate fundamentală, dar cu deosebiri în parametrii ce o caracterizează.

b) Unele din proteinele provenite prin duplicarea genei ancestrale pot fi lipsite de vreo activitate semnificativă (44, 45). Acestea şi-ar „căuta" semnificaţia funcţională tocmai în prezent. Un exemplu ar fi fracţiunea III a procarboxipeptidazei cu o origine aparent comună cu fracţiunea II activă (45).

c) Pot exista proteine cu activităţi marcat diferite, cu toate că sînt omologe şi au o origine comună [pentru un eventual exemplu vezi omologia între aldolază şi serinproteaze (42)].

Toate aceste trei posibilităţi fac parte din ceea ce se denumeşte evoluţie divergentă (68). O consecinţă logică a punctelor (b) şi (c) este că poate exista şi o evoluţie convergentă, în care polipeptide cu origini filogenetice diferite au ajuns la activităţi analoge. Exemple pentru evoluţia convergentă nu lipsesc, deşi, ca mecanism, ea este mult mai puţin probabilă (68).

Din considerentele de mai sus reiese necesitatea aplicării unor metode statistice în compararea secvenţelor de proteine omologe, tocmai pentru a exclude o potrivire întîmplătoare (21).

Pentru asemenea exemplificări, cea mai potrivită discuţie este asupra diverselor tipuri de hemoglobină, care, aşa cum s-a mai amintit, este cea mai binecunoscută proteină în biochimie. Se cunosc astăzi peste 30 de secvenţe de aminoacizi pentru globine izolate de la o mare varietate de specii de mamifere superioare şi inferioare, vertebrate inferioare şi chiar de la insecte (cit. 46, 68), a căror asemănare exclude întîmplarea. Compararea acestora a dus la concluzii importante. Astfel, comparînd lanţuri de globine echivalente, de exemplu, lanţuri α de la specii diferite, şi cunoscînd perioada cînd speciile respective s-au despărţit în filogenie, se poate deduce rata de schimbări în secvenţă per timp (de obicei, în înlocuiri-deleţii-inserţii 100 000 000 de ani). Acest mod de abordare este foarte probabil corect, căci după cum se vede din tabelul IV, 2, există o relaţie directă între numărul de deosebiri şi îndepărtarea filogenetică a speciilor de provenienţă a globinelor. Comparînd apoi între ele globinele omologe, de exemplu, lanţurile α şi β umane, unul cu altul, se poate deduce (cunoscînd rata de înlocuiri pentru fiecare) perioada cînd copiile respective au început să evolueze independent. Cu alte cuvinte se poate stabili

TABELUL IV, 2

Numărul înlocuirilor de aminoacizi în lanțurile α și β ale hemoglobinelor de la diverse specii, comparativ cu lanțurile α și β de la om (după G. Braunitzer și colab.)

	Cal	Porc	Bovidee	Șoarece	Lamă	Oaie	Iepure	Crap
Lanț α uman	(18)	17	17	16	19	20	24	69
Lanț β uman	24	23	(27)	—	21	A 22 B 23 C 28	14	—

momentul duplicării genei ancestrale comune. Astfel, pentru globinele umane, deosebirile cele mai mari se observă între lanțurile α și δ (83), comparativ cu cele între α și β (78). De aici se poate stabili că ancestorul comun pentru α și δ este mai vechi decît cel pentru α și β. Similar, după numărul de deosebiri între β și γ (36) și între β și δ (10), se poate deduce că genele pentru β și δ s-au despărțit cel mai recent (35) (cit. 68). Secvența cea mai îndepărtată de

Fig. IV, 5. Schema evoluției lanțurilor de globine. Pentru detalii, vezi textul [*după V. M. Ingram* (36) *și V. Braun și colab.* (7), modificat].

toate aceste lanțuri este cea a mioglobinei, ceea ce justifică indicarea genei acesteia ca urmașul direct al ancestorului comun pentru toate globinele umane.

Compararea secvenței de aminoacizi din prima jumătate a mioglobinei cu cea din a doua a reușit să indice un grad de omologie semnificativ mai mare decît o potrivire întîmplătoare.

Se poate presupune astfel că gena mioglobinei a provenit prin duplicarea cu sudarea „cap la coadă" a unei gene originare ce codifică o polipeptidă cu aproximativ 70 de aminoacizi. La un moment dat, în evoluție, această genă

dublată s-a duplicat, una din copii ducînd în linie directă la mioglobina actuală. Cealaltă, printr-un proces de translocare, s-a îndepărtat în cromozom de locul pe care îl ocupa inițial. Ulterior, aceasta, la rîndul ei prin duplicare, a dat naștere la două gene: una care a evoluat spre cea pentru lanțurile α actuale, cealaltă suferind un proces de translocare similar precedentului. Prin duplicarea acesteia din urmă au apărut alte două gene, una care a condus la gena lanțurilor γ actuale, cealaltă urmînd modelul de translocare de mai sus. Ultimele 2 gene apărute, prin duplicarea precedentei, sînt cele care au evoluat spre genele β și δ actuale, încă strîns învecinate (netranslocate) (vezi mai sus). Descoperirea lanțurilor ε a dus la completarea schemei prin intercalarea unei trepte în plus între gena lanțurilor α și cea care a dat apoi naștere celor pentru γ, β și δ (fig. IV, 5). O schemă, poate mai apropiată de realitate, este cea din figura IV, 6, în care evoluția acestor gene este figurată printr-o linie continuă între gena mioglobinei ancestrale și cea a lanțurilor δ umane actuale, din care s-au desprins (și translocat) genele celorlalte lanțuri. Procesul de duplicare, evidențiat prin studiile de mai sus, este de fapt cu mult mai pronunțat, dovezi pentru aceasta fiind aduse de descoperirea a 3 gene pentru lanțurile β la om, din care 2 gene codifică exact aceeași secvență de aminoacizi, iar cealaltă o secvență modificată numai într-un singur loc din secvență (58) (cit. 32). Similar au fost descrise mai multe gene nealele pentru lanțurile α la cal și capră și β la oaie (cit. 46). După această ipoteză ar fi de așteptat ca pe scara evoluției să se găsească la animale diferite un număr diferit de gene pentru globină. De fapt, la unul din cele mai primitive vertebrate, *Lampetra fluviatilis*, au fost descrise 4 tipuri de globine (2 tipuri embrionare și 2 tipuri la adult), care nu se asociază însă în tetrameri decît foarte slab în stare deoxigenată. Deosebirile între secvențele de aminoacizi ale acestora și lanțurile globinelor de la mamifere se apropie de numărul diferențelor, observat între acestea și mioglobina de la balenă. Aceasta indică, conform principiului amintit mai sus, că ancestorul comun pentru lanțurile globinelor de la mamifere și cele de la *Lampetra* a apărut în timp cu foarte puțin după duplicarea genei inițiale a mioglobinei (46) (tabelul IV, 3).

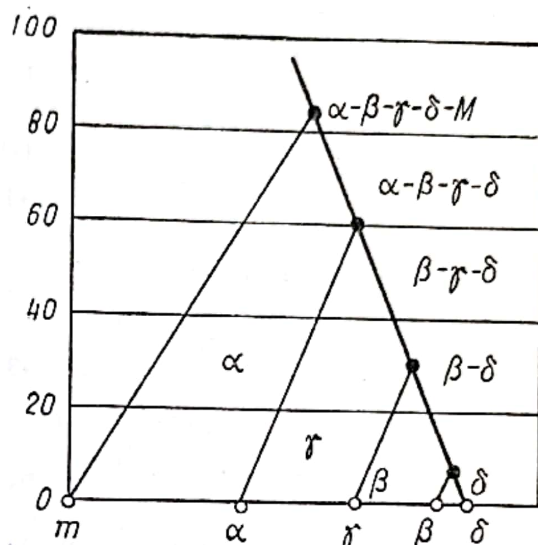


Fig. IV, 6. Schema evoluției lanțurilor globinelor [*după E. Zuckerkandl și L. Pauling* (68, 69)]. Pe ordonată, numărul maxim de deosebiri, pe abscisă, genele rezultate.

Mutațiile suferite de genele duplicate ale diverselor globine au condus în final la diversitatea actuală a secvențelor de globine. Din compararea acestora s-a tras concluzia importantă că mutațiile reținute în evoluție nu sînt întîmplătoare. Chiar dacă este de așteptat ca unele schimburi de aminoacizi să nu se repercuteze asupra activității proteinei în mod marcat (așa cum se observă

TABELUL IV, 3

Numărul resturilor de aminoacizi prin care diferă lanţurile globinelor
(după C. Nolan şi E. Margoliash)

Toate globinele		Globinele din Hb. de la mamifere	
Lanţuri comparate	Nr. de schimbări	Lanţuri comparate	Nr. de schimbări
Mioglobina de balenă — toate globinele	114—125	Lanţuri α cu lanţuri α între ele	0—28
Hemoglobină *Lampetra*-toate celelalte globine	107—118	Lanţuri α de la primate între ele	0—26
Lanţuri α — lanţuri non α	76—95	Lanţuri α umane cu lanţuri α de la maimuţe inferioare	15—24
Lanţ α de la crap — Lanţ α mamifere	54—62	Lanţuri α de la primate — lanţuri non α	16—28
Lanţ γ uman — toate celelalte lanţuri non α	36—48	Lanţuri β cu lanţuri β între ele	0—48
Lanţ δ uman — lanţ β uman	10	Lanţuri β de la primate între ele	0—41
Lanţuri α cu α între ele	0—62	Lanţ β uman cu lanţurile β de la maimuţe inferioare	29—31
Lanţuri non α cu non α între ele	0—49	Lanţuri β de la primate — cu lanţuri β de la alte animale	24—48

pentru diversele variante de hemoglobine umane), faptul că lanţurile echivalente de la specii diferite (lanţurile α) diferă mai puţin între ele decît faţă de lanţurile omologe din aceeaşi specie (faţă de β umane) este o primă indicaţie despre necesitatea păstrării unui tip de structură. De fapt, încercările de a potrivi secvenţele de aminoacizi cunoscute pentru diversele globine în modelele spaţiale ale mioglobinei şi hemoglobinei au arătat că acestea se pot adapta aproape perfect (cu unele mici caracteristici individuale). Este ceea ce se numeşte omologia de structură tridimensională (45). Din acest motiv, atunci cînd se compară secvenţele globinelor, este mai potrivit de indicat poziţia aminoacidului respectiv după regiunea Kendrew a structurii tridimensionale (41) (tabelul IV, 4).

În toate globinele cunoscute sînt păstrate cîteva resturi de aminoacizi strict invariabile în aceeaşi poziţie (după sistemul de numerotare Kendrew). Putem presupune că acestea sînt absolut necesare în păstrarea configuraţiei tridimensionale a globinei care asigură activitatea fundamentală a mio- şi hemoglobinelor de legare reversibilă a oxigenului. Este vorba despre resturile Fen CD 1, His E 7, Leu F 4, His F 8, Liz H 10 şi Tir H 23. Importanţa unora din aceste resturi a fost subliniată cu ocazia discutării într-un capitol anterior a unor variante de hemoglobine anormale umane cu semnificaţie patologică. Este cazul „bolilor moleculare“ Hb. M. Boston şi Hb. M. Saskatoon (înlocuirea His E 7), Hb. M. Iwate şi Hb. M. Hyde Park (înlocuirea His F 8), Hb. Torino şi Hb. Hammersmith (schimbarea Fen CD 1) sau Hb. Santa Ana (înlocuirea Leu F 4).

TABELUL IV, 4

Secvenţele de aminoacizi în lanţurile *m* de la om, balenă α, β, γ, δ din Hb, umane

Lanţ *m* uman	Lanţ *m* Poz.	Lanţ α Poz.	Lanţ β Poz.	Lanţ γ Poz.	Lanţ δ Poz.	Regiunea Kendrew
Gli	1 Val	1 Val	1 Val	1 Val	1 Val $\alpha_1\alpha_2$	NAI
			2 His	2 His	2 His	
	2 Leu	2 Leu	3 Leu	3 Fen	3 Leu	
	3 Ser	3 Ser	4 Tre	4 Tre	4 Tre 1	SN
	4 Glu	4 Pro	5 Pro	5 Pro	5 Pro ↑	
Asx	5 Gli	5 Ala	6 Glu	6 Glu	6 Glu	
	6 Glu	6 Asp	7 Glu	7 Glu	7 Glu	
	7 Trp	7 Liz	8 Liz	8 Liz	8 Liz	
	8 Gln	8 Tre	9 Ser	9 Ala	9 Tre	
Pauză	9 Leu	9 Asp	10 Ala	10 Tre	10 Ala	
•	10 Val	10 Val	11 Val	11 Ile	11 Val	● A
	11 Leu	11 Liz	12 Tre	12 Tre	12 Asn	
Asx	12 His	12 Ala	13 Ala	13 Ser	13 Ala	
	13 Val	13 Ala	14 Leu	14 Leu	14 Leu	●
	14 Trp	14 Trp	15 Trp	15 Trp	15 Trp	●
Gli	15 Ala	15 Gli	16 Gli	16 Gli	16 Gli	
	16 Liz	16 Liz	17 Liz	17 Liz	17 Liz ↓	
	17 Val	17 Val	18 Val	18 Val	18 Val 15	
	18 Glu	18 Gli	19 Asp	19 Asp	19 Asp	
Pro	19 Ala	19 Ala				AB
	20 Asp	20 His				
Ile	21 Val	21 Ala	20 Val	20 Val	20 Val 1	SP
	22 Ala	22 Gli	21 Asp	21 Gln	21 Asp ↑	
	23 Gli	23 Glu	22 Glu	22 Asp	22 Ala	
	24 His	24 Tir	23 Val	23 Ala	23 Val	
	25 Gli	25 Gli	24 Gli	24 Gli	24 Gli	●
	26 Gln	26 Ala	25 Gli	25 Gli	25 Gli	
Glx	27 Asp	27 Glu	26 Glu	26 Glu	26 Glu	SP
Val	28 Ile	28 Ala	27 Ala	27 Tre	27 Ala	● B
	29 Leu	29 Leu	28 Lei	28 Leu	28 Leu	●
	30 Ile	30 Glu	29 Gli	29 Gli	29 Gli	
	31 Arg	31 Arg	30 Arg	30 Arg	30 Arg	SP $\alpha_1\beta_1$
	32 Leu	32 Met	31 Leu	31 Leu	31 Leu	●
	33 Fen	33 Fen	32 Leu	32 Leu	32 Leu 16	●
	34 Liz	34 Leu	33 Val	33 Val	33 Val ↓ 1	$\alpha_1\beta_1$
Gli	35 Ser	35 Ser	34 Val	34 Val	34 Val	
	36 His	36 Fen	35 Tir	35 Tir	35 Tir	
	37 Pro	37 Pro	36 Pro	36 Pro	36 Pro ↑	$\alpha_1\beta_2$
	38 Glu	38 Tre	37 Trp	37 Trp	37 Trp	$\alpha_1\beta_2$
	39 Tre	39 Tre	38 Tre	38 Tre	38 Tre	O h C
	40 Leu	40 Liz	39 Glu	39 Glu	39 Glu	
	41 Glu	41 Tre	40 Arg	40 Arg	40 Arg ↓ 7	SP$\alpha_1\beta_2$
	42 Liz	42 Tir	41 Fen	41 Fen	41 Fen	$\alpha_1\beta_2$
	43 Fen	43 Fen	42 Fen	42 Fen	42 Fen	O h
	44 Asp	44 Pro	43 Glu	43 Asp	43 Glu	CD

TABELUL IV, 4 (continuare)

Lanț m uman	Lanț m Poz.	Lanț α Poz.	Lanț β Poz.	Lanț γ Poz.	Lanț δ Poz.	Regiunea Kendrew
Liz	45 Arg	45 His	44 Ser	44 Ser	44 Ser	SP hm
	46 Fen	46 Fen	45 Fen	45 Fen	45 Fen	○
	47 Liz		46 Gli	46 Gli	46 Gli	
	48 His	47 Asp	47 Asp	47 Asn	47 Asp	
	49 Leu	48 Leu	48 Leu	48 Leu	48 Leu	SN
	50 Liz	49 Ser	49 Ser	49 Ser	49 Ser	SP
Ser	51 Tre	50 His	50 Tre	50 Ser	50 Ser	
	52 Glu		51 Pro	51 Ala	51 Pro ↑1	$\alpha_1\beta_1$
Asp	53 Ala		52 Asp	52 Ser	52 Asp	
	54 Glu		53 Ala	53 Ala	53 Ala	D
	55 Met		54 Val	54 Ile	54 Val	●
	56 Liz		55 Met	55 Met	55 Met ↓7	$\alpha_1\beta_1$
	57 Ala	51 Gli	56 Gli	56 Gli	56 Gli	
	58 Ser	52 Ser	57 Asn	57 Asn	57 Asn	SP
	59 Glu	53 Ala	58 Pro	58 Pro	58 Pro ↑1	
	60 Asp	54 Glu	59 Liz	59 Liz	59 Liz	
	61 Leu	55 Val	69 Val	60 Val	60 Val	●
	62 Liz	56 Liz	61 Liz	61 Liz	61 Liz	SP
	63 Liz	57 Gli	62 Ala	62 Ala	62 Ala	
	64 His	58 His	63 His	63 His	63 His	SP d, h
	65 Gli	59 Gli	64 Gli	64 Gli	64 Gli	●
Ala	66 Val	60 Liz	65 Liz	65 Liz	65 Liz	
	67 Tre	61 Liz	66 Liz	66 Liz	66 Liz	SP
	68 Val	62 Val	67 Val	67 Val	67 Val	● h E
	69 Leu	63 Ala	68 Leu	68 Leu	68 Leu	○
	70 Tre	64 Asp	69 Gli	69 Tre	69 Gli	
	71 Ala	65 Ala	70 Ala	70 Ser	70 Ala	h
	72 Leu	66 Leu	71 Fen	71 Leu	71 Fen	●
	73 Gli	67 Tre	72 Ser	72 Gli	72 Ser	
Gli	74 Ala	68 Asn	73 Asp	73 Asp	73 Asp	
	75 Ile	69 Ala	74 Gli	74 Ala	74 Gli	●
	76 Leu	70 Val	75 Leu	75 Ile	75 Leu	○
	77 Liz	71 Ala	76 Ala	76 Liz	76 Ala ↓	
	78 Liz	72 His	77 His	77 His	77 His	1 SP
	79 Liz	73 Val	78 Leu	78 Leu	78 Leu	
	80 Gli	74 Asp	79 Asp	79 Asp	79 Asp	
	81 His	75 Asp	80 Asn	80 Asp	80 Asn	SP EF
	82 His	76 Met	81 Leu	81 Leu	81 Leu	
	83 Glu	77 Pro	82 Liz	82 Liz	82 Liz	
	84 Ala	78 Asn	83 Gli	83 Gli	83 Gli	
	85 Glu	79 Ala	84 Tre	84 Tre	84 Tre	pauză
Ile	86 Leu	80 Leu	85 Fen	85 Fen	85 Fen	○
	87 Liz	81 Ser	86 Ala	86 Ala	86 Ala ↑1	
	88 Pro	82 Ala	87 Tre	87 Glu	87 Tre	
	89 Leu	83 Leu	88 Leu	88 Leu	88 Leu	SN h
	90 Ala	84 Ser	89 Ser	89 Ser	89 Ser	
	91 Glu	85 Asp	90 Glu	90 Glu	90 Glu	F
	92 Ser	86 Leu	91 Leu	91 Leu	91 Leu	
	93 His	87 His	92 His	92 His	92 His	SP p, h

Lanț *m* uman	Lanț *m* Poz.	Lanț α Poz.	Lanț β Poz.	Lanț γ Poz.	Lanț δ Poz.	Regiunea Kendrew
	94 Ala	88 Ala	93 Cis	93 Cis	93 Cis ↓9	SN
	95 Tre	89 His	94 Asp	94 Asp	94 Asp	SP
	96 Liz	90 Liz	95 Liz	95 Liz	95 Liz	SP
	97 His	91 Leu	96 Leu	96 Leu	96 Leu	hm FG
	98 Liz	92 Arg	97 His	97 His	97 His	SP $\alpha_1\beta_2$
Val	99 Ile	93 Val	98 Val	98 Val	98 Val	○ h
	100 Pro	94 Asp	99 Asp	99 Asp	99 Asp	
	101 Ile	95 Pro	100 Pro	100 Pro	100 Pro ↑1	SN
	102 Liz	96 Val	101 Glu	101 Glu	101 Glu	$\alpha_1\beta_2$
	103 Leu	97 Asn	102 Asn	102 Asn	102 Asn	
	104 Tir	98 Fen	103 Fen	103 Fen	103 Fen	○ h
	105 Glu	99 Liz	104 Arg	104 Liz	104 Arg	
	106 Fen	100 Leu	105 Leu	105 Leu	105 Leu	SN
	107 Ile	101 Leu	106 Leu	106 Leu	106 Leu	○ h
Ala	108 Ser	102 Ser	107 Gli	107 Gli	107 Gli	
	109 Glu	103 His	108 Asn	108 Asn	108 Asn	SP
	110 Ala	104 Cis	109 Val	109 Val	109 Val	○
	111 Ile	105 Leu	110 Leu	110 Leu	110 Leu	○
Val	112 Ile	106 Leu	111 Val	111 Val	111 Val	
Asp	113 His	107 Val	112 Cis	112 Tre	112 Cis	
	114 Val	108 Tre	113 Val	113 Val	113 Val	
	115 Leu	109 Leu	114 Leu	114 Leu	114 Leu	○
Glu	116 His	110 Ala	115 Ala	115 Ala	115 Ala	$\alpha_1\beta_1$
	117 Ser	111 Ala	116 His	116 Ile	116 Arg ↓19	$\alpha_1\beta_1$
Liz	118 Arg	112 His	117 His	117 His	117 Asn	SP
	119 His	113 Leu	118 Fen	118 Fen	118 Fen	
	120 Pro	114 Pro	119 Gli	119 Gli	119 Gli	$\alpha_1\beta_1$
	121 Gli	115 Ala	120 Liz	120 Liz	120 Liz	GH
	122 Asn	116 Glu	121 Glu	121 Glu	121 Glu	
	123 Fen	117 Fen	122 Fen	122 Fen	122 Fen	$\alpha_1\beta_1$
	124 Gli	118 Tre	123 Tre	123 Tre	123 Tre ↑	
	125 Ala	119 Pro	124 Pro	124 Pro	124 Pro 1	$\alpha_1\beta_1$
	126 Asp	120 Ala	125 Pro	125 Glu	125 Glu	
	127 Ala	121 Val	126 Val	126 Val	126 Ala	SN
	128 Gln	122 His	127 Glu	127 Glu	127 Glu	SP
	129 Gli	123 Ala	128 Ala	128 Ala	128 Ala	SN
	130 Ala	124 Ser	129 Ala	129 Ser	129 Ala	
	131 Met	125 Leu	130 Tir	130 Tre	130 Tir	●
	132 Asn	126 Asp	131 Glu	131 Glu	131 Glu	SP
	133 Liz	127 Liz	132 Liz	132 Liz	132 Liz	SP
	134 Ala	128 Fen	133 Val	133 Met	133 Val	●
	135 Leu	129 Leu	134 Val	134 Val	134 Val	●
	136 Glu	130 Ala	135 Ala	135 Tre	135 Ala	H
	137 Leu	131 Ser	136 Gli	136 Gli	136 Gli	
	138 Fen	132 Val	137 Val	137 Ala	137 Val	● h
	139 Arg	133 Ser	138 Ala	138 Ala	138 Ala	
	140 Liz	134 Tre	139 Asn	139 Ser	139 Asn	SP $\beta_1\beta_2$
	141 Asp	135 Val	140 Ala	140 Ala	140 Ala	
Met	142 Ile	136 Leu	141 Leu	141 Leu	141 Leu	●
	143 Ala	137 Tre	142 Ala	142 Ser	142 Ala	$\beta_1\beta_2$

TABELUL IV, 4 (continuare)

Lanț *m* uman	Lanț *m* Poz.	Lanț α Poz.	Lanț β Poz.	Lanț γ Poz.	Lanț δ Poz.	Regiunea Kendrew
Ser	144 Ala	138 Ser	143 His	143 Ser	143 His	
Asp	145 Liz	139 Liz	144 Liz	144 Arg	144 Liz	
	146 Tir	140 Tir	145 Tir	145 Tir	145 Tir	
	147 Liz	141 Arg	146 His	146 His	146 His ↓25	● SP $\beta_1\beta_2$
	148 Glu					
	149 Leu				↑	
	150 Gli					
Fen	151 Tir					
	152 Gln					
	153 Gli					HC5

Urmărind însă modul în care au fost înlocuiți aminoacizii în diversele secvențe, se poate observa faptul că se respectă anumite reguli. Astfel, din 23 de resturi de aminoacizi care sînt orientați înspre interiorul plierii lanțului polipeptidic, în toate globinele cunoscute, cel puțin 27 sînt apolari; restul de 6 fiind ocazional înlocuiți și cu resturi polare. Din 115—116 resturi comparabile la suprafața fiecărui lanț de globină 9 sînt ocupate invariabil de resturi apolare. Unii dintre aceștia au semnificații deosebite, cum ar fi resturile de prolină, pentru întreruperea α-helixurilor sau anumitele grupări în relație cu hemul. Alte 22 de locuri de la suprafața lanțurilor de globină sînt ocupate invariabil de resturi polare (cit. 46), de asemenea cu funcții speciale, cum ar fi contacte cu hemul, legături intralanț sau interlanțuri în hemoglobinele tetramer. Din acest gen de date s-a definit noțiunea de „schimb de aminoacizi echivalent“, ceea ce semnifică înlocuirea unui rest cu altul cu proprietăți asemănătoare. Un exemplu ar fi glicocolul din E 8 înlocuit în lanțurile α ale hemoglobinei bovine cu o alanină. Acest glicocol vine în contact datorită plierii lanțurilor cu un altul, cel din B 6, la încrucișarea regiunilor B și E. Alanina care l-a înlocuit are un rest lateral scurt, ceea ce nu deranjează contactul amintit. Noțiunea de schimb echivalent trebuie interpretată cu grijă, căci doi aminoacizi oarecare se pot potrivi la fel de bine într-o regiune a polipeptidei, în timp ce în alta nu și, evident, cu atît mai puțin la o altă proteină.

Regiuni relativ invariabile sînt cele între F 4—G 12, B 6—CD 7 și E 2—E 8. Ele formează împreună o mare parte din pereții cavității hemului.

Este evident că resturile de aminoacizi invariabile, precum și cele relativ invariabile asigură conformația tridimensională în esență similară tuturor globinelor și proprietatea lor comună de a lega hemul și prin intermediul acestuia (care asigură o cedare masivă în țesuturi și o saturare aproape completă în plămîni) este proprietatea rezultată în esență din combinarea a patru lanțuri de a se combina reversibil cu oxigenul (67). Proprietatea evoluată a hemoglobinelor de a lega și disocia oxigenul, urmărind o curbă cinetică sigmoidă de globină fiecare cu o grupare hem care „cooperează“ între ele (41). Acest

lucru a devenit posibil în filogenie prin mutaţii care au dus la apariţia unor resturi laterale „complementare" necesare asocierii.

După datele lui G. Braunitzer şi colab. (7—8), C. Nolan şi E. Margoliash (46), secvenţa încă incomplet precizată pentru mioglobina de om, după R. L. Hill şi colab. (32), indică numai locurile deosebite de lanţul *m* de la balenă. Pauza indică lipsa poziţiei respective în lanţul mioglobinei umane (*a*) faţă de mioglobina de la balenă şi (*b*) în toate lanţurile indicate faţă de Hb. de la *Lampetra*. Sn şi SP au fost folosite pentru a indica poziţii ocupate la suprafaţă de resturi nepolare şi respectiv polare. Similar ● şi o indică resturi orientate spre interior invariabil nepolare şi respectiv polare; *d* şi *p* indică histidinele proximale şi distale. α_1 β_1; α_1 α_1; β_1 β_1; α_1 β_2 indică resturi implicate în tipurile respective de contact între subunităţi. Aminoacizii în contact cu hemul sînt indicaţi prin *hm* şi *hb*. Regiunile Kendrew sînt indicate prin majusculele respective, A, B, C etc.

Înlocuiri ale acestor resturi de contact între subunităţi, aşa cum s-a arătat într-un capitol anterior, duc la hemoglobine anormale cu semnificaţie patologică. Un exemplu ar fi Arg 92 (FG4), comună tuturor lanţurilor cunoscute, care formează una din legăturile de tip α_1 β_2 între subunităţi. Acest rest lipseşte în hemoglobina de la *Lampetra* şi în mioglobine, iar înlocuirea ei cu glutamină sau cu leucină în hemoglobinele umane Hb. J Capetown şi respectiv Hb. Chesapeake duce la alterarea proprietăţilor normale (cit. 46).

O altă proprietate deosebit de importantă a hemoglobinelor tetramer normale este de a deveni mai acide prin oxigenare, ceea ce dă posibilitatea captării ionilor de H^+ în stare deoxigenată (efect Bohr). Aceşti ioni sînt eliberaţi prin formarea acidului carbonic la nivelul ţesuturilor, astfel că Hb. participă activ şi în transportul CO_2. Efectul se datorează histidinelor C terminale ale lanţurilor non-α care prin oxigenarea hemoglobinei se eliberează din legăturile saline formate între N imidazolului şi un COO^- liber al resturilor Asp FG 1, precum şi altor tipuri de legături. Resturile implicate în producerea efectului Bohr sînt păstrate în timpul evoluţiei la toate globinele tetramer, în timp ce în mioglobine lipsesc. Variantele genetice care afectează aceste resturi duc la modificări cu semnificaţie patologică (49).

Tot în legătură cu hemoglobinele se poate admite un aspect deosebit de instructiv. Se ştie că în regiunile în care malaria este endemică se găseşte o proporţie mai mare de heterozigoţi cu Hb.S. şi din cei cu deficienţă a glucozo-6-fosfatdehidrogenazei. S-au putut dovedi experimental că în globulele roşii cu Hb. S. sau cu variante deficitare a G6PD, dezvoltarea plasmodiului este împiedicată (39). Se poate vedea astfel cum prin existenţa unor variante genetice, chiar dacă prin ele însăşi cu semnificaţie patologică (homozigoţia S este letală) se asigură supravieţuirea speciei în condiţii deosebite ale mediului. Similar cu remarca, astăzi clasică, a lui L. Pauling, că „moleculele (de proteine) nu sînt bolnave prin ele însăşi" tot aşa nu se poate vorbi despre o „proteină evoluată prin ea însăşi", ambele noţiuni necesitînd luarea în consideraţie a contextului metabolic (67).

Din discuţia sumară de mai sus asupra diverselor tipuri de globine s-a conturat deja calea diversificării unei activităţi de bază prin apariţia succesivă a unor gene duplicate.

Este de aşteptat însă ca anumite proteine să prezinte o conservare mult mai pronunţată a structurii, dată fiind necesitatea persistenţei unei activităţi esenţiale cu caracteristici stricte. O astfel de proteină pare să fie citocromul c.

Se cunosc secvenţele de aminoacizi pentru citocromul c de la peste 30 de specii dintre care 23 vertebrate, 4 nevertebrate, 3 fungi şi de la o plantă superioară (cit. 46). În toate aceste secvenţe, peste o treime din poziţii sînt ocupate de resturi invariabile. Toţi aceşti citocromi au în jur de 104 aminoacizi, în afară de cîţiva care prezintă pînă la 8 resturi adiţionale la capătul N terminal (numerotate de la —1 la —8).

Se constată ca şi la alte proteine înlocuiri de aminoacizi, majoritatea necesitînd modificarea unei singure baze din codonii respectivi, deleţii şi inserţii. Cele mai multe din înlocuirile de aminoacizi se fac „conservativ", adică prin resturi echivalente. Multe din poziţiile invariabile sînt ocupate de glicocol, aminoacid deosebit de ceilalţi prin lipsa restului lateral, altele prin prolină, aminoacid care destabilizează helixurile (cit. 40). Evident rămîn invariabile resturile laterale care leagă gruparea prostetică, de asemenea o grupare hem, dar diferit legată de cea din hemoglobine. Este cazul Cis 14 şi 17, prin care sînt ataşate resturile vinil ale hemului, ale His 18 şi Met 80, ambele în relaţie cu Fe din hem (cit. 46). Se observă la toate speciile o secvenţă lungă între resturile 70—80 strict invariabilă. Această invariabilitate s-ar explica prin faptul că aici sînt cuprinşi aminoacizi care vin în contact cu gruparea prostetică, precum şi alţii ale căror resturi laterale asigură specificitatea legării citocromului de proteinele mitocondriale. Necesitatea unirii de mai multe proteine este evident o condiţie limitantă a variabilităţii şi explică în parte gradul de conservare marcată a secvenţei de aminoacizi în timpul evoluţiei.

Un grad înalt de omologie a fost indicat şi pentru lanţul γ al fibrinogenului (51). În schimb, secvenţele fibrinopeptidelor A şi B diferă mult de la o specie la alta. Astfel, comparînd secvenţele acestor proteine de la om cu cele de la bovidee şi porc, se constată o omologie de 75% pentru lanţul γ şi de numai 29% pentru fibrinopeptidele A şi B. Deosebirile în gradul de conservare indică deosebiri corespunzătoare în importanţa funcţională (cit. 51).

Pentru gliceraldehid-3-fosfatdehidrogenază, o enzimă-cheie în sistemul enzimatic al glucozei (întîlnit pretutindeni în lumea vie), conservatorismul pare să fie şi mai marcat. Enzima este formată de asamblarea a patru subunităţi identice, fiecare cu g.m. în jur de 36 000 şi avînd în jur de 330 de aminoacizi. Compararea secvenţelor de aminoacizi ale subunităţilor provenite din enzima de la mamifere cu cele de la o specie foarte îndepărtată filogenetic — homarul — indică o identitate de 72% (30). Se pot deosebi şi în acest caz, desigur tipurile de înlocuiri amintite, deleţii şi inserţii, regiuni cu invariabilitate mai pronunţată decît în restul secvenţei (în special în jurul resturilor catalitice sau importante în structura tridimensională), caracterul probabil „echivalent" al multor schimbări din secvenţă etc. (30).

Cel mai înalt grad de omologie şi conservatorism întîlnit pînă acum pentru secvenţele de aminoacizi îl constituie însă o clasă de histone. Secvenţa acestor histone izolate de la specii deosebit de îndepărtate (mazăre şi bovidee) diferă doar prin 2 poziţii din 102 aminoacizi (cit. 3). Este o indicaţie puternică pentru un rol biologic strict.

Pornind de la analogii în mecanismul de acţiune, cum ar fi utilizarea coenzimelor NAD şi NADP, reacţii încrucişate cu diverse substrate şi similarităţi structurale generale (cum ar fi g.m. a subunităţilor) unii autori consideră dehidrogenazele NAD şi NADP—dependente ca provenind dintr-o genă precursoare comună în evoluţie (23, 26). S-au adus şi dovezi mai directe, cum ar fi compararea unor secvenţe scurte izolate din aceste enzime. Mai uşor de urmărit această omologie este evidentă în cazul subunităţilor lactatdehidrogenazei, respectiv A (caracteristică muşchiului striat), B (caracteristică miocardului) şi C (izolată de curînd din izoenzima LDH-X caracteristică spermatozoizilor). Prezenţa celor trei gene care codifică subunităţi parţial diferite de lactatdehidrogenază poate fi uşor interpretată pe baza modelului de duplicări şi translocări succesive. De altfel, gena subunităţii de tip C se găseşte foarte aproape de cea pentru B (indicînd o duplicare recentă), şi ambele departe de A (67).

Dacă diversificarea dehidrogenazelor plecînd de la o singură genă primară pare mai puţin clară pentru moment, un alt grup de enzime, cunoscut sub numele de „serinproteaze", furnizează un bun exemplu în acest sens (28, 31, 45, 59). Între acestea se găsesc 3 enzime secretate de pancreas sub formă inactivă: chimotripsinogenele A şi B şi tripsinogenul. Secvenţele de aminoacizi ale acestor 3 proteine prezintă numeroase asemănări de structură. Asemănările sînt mai numeroase între cele 2 chimotripsinogene, iar tripsinogenul este mai apropiat de chimotripsinogenul B (59). Se presupune din acest motiv că iniţial a existat o genă unică din care s-au desprins timpuriu două pentru tripsinogen şi chimotripsinogenul B şi abia mai tîrziu cea din urmă s-a duplicat pentru a da şi cea a chimotripsinogenului A (45). În jurul resturilor catalitice sînt păstrate secvenţe întinse identice; astfel după His 49 din chimotripsinogene, care corespunde unei His în poziţia 29 a tripsinogenului, urmează în toate cazurile aceeaşi 8 aminoacizi. Similar găsim secvenţe identice în jurul His 57 din chimotripsinogene.

Stabilirea recentă a configuraţiei tridimensionale a chimotripsinogenului A a dat posibilitatea încercării gradului în care se potrivesc în acest model secvenţele de aminoacizi ale proteinelor înrudite. Chimotripsinogenul B se potriveşte aproape perfect cu tripsinogenul, dar cu cîteva mici ajustări. Este vorba în special de prezenţa a două legături disulfidice în regiuni în care chimotripsinogenele nu prezintă asemenea punţi, dar în care structura lor tridimensională le permite (cit. 59), aşa cum rezultă din figura IV, 7.

Omologii de secvenţă cu cele 3 proteine de mai sus prezintă şi alte enzime proteolitice, cum sînt elastaza, trombina, plasmina şi kalikreina (28) (cit. 45). Se poate presupune că toate acestea au o origine comună. Este remarcabil numărul mare de funcţii fiziologice diferite îndeplinite de enzime cu o origine comună. Tot în grupa serinproteazelor intră şi anumite proteaze bacteriene, subtilizinele. Compararea secvenţelor de aminoacizi a subtilizinelor cu cele ale serinproteazelor de la mamifere a indicat o evoluţie convergentă, adică pornind de la gene ancestoare diferite.

Exemple de evoluţie convergentă şi divergentă ne sînt oferite însă mult mai pregnant de cazul unei alte proteine, lizozimul din albuş de ou (50). Com-

parativ cu lizozimul produs de bacteriofagi în celulele-gazdă (47), cel din albuşul de ou este complet diferit, ceea ce indică indiscutabil o evoluţie convergentă spre aceeaşi funcţie a 2 proteine codificate de la început de 2 gene. În schimb, comparînd secvenţa lizozimului din albuşul de ou cu cea a α-lactalbuminei, omologia depăşeşte 40%. Mai mult chiar, secvenţa α-lactalbuminei poate fi uşor acomodată în modelul tridimensional al lizozimului (omologie

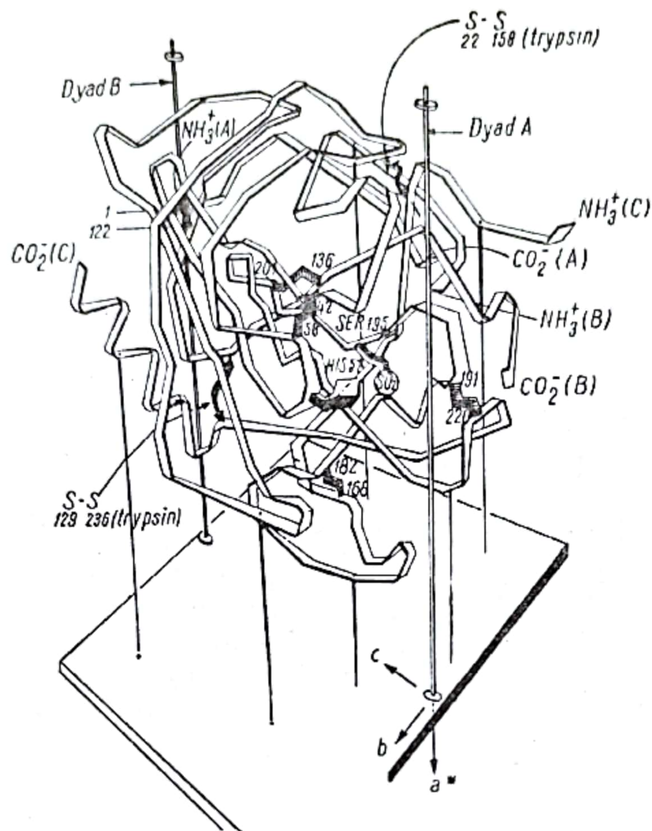


Fig. IV, 7. Structura tridimensională a chimotripsinogenului A cu indicaţii asupra posibilităţii de plasare a legăturilor —S—S— în cazul tripsinogenului [*după J. Kraut şi colab.* (cit. 50); *D. C. Phillips* (50)].

tridimensională), stabilit prin studii cu raze Röntgen (50). α-lactalbumina este una dintre subunităţile lactozosintetazei (11). Similar lizozimului, această enzimă acţionează pe legături α-1,4-glucopiranozil, dar cu efecte opuse. Se crede că mutaţiile care au dus la divergenţa celor două proteine au afectat inclusiv centrul activ al enzimei ancestrale (cit. 45).

Exemplele de mai sus pot da o imagine generală asupra soartei genelor duplicate, respectiv diversificarea proteinelor cu apariţia unor funcţii noi, pe lîngă conservarea mai mult sau mai puţin a structurii de bază. Cu toate acestea, extrapolarea unor asemenea date este practic nesemnificativă pentru a justifica gradul mare de secvenţe repetative în ADN-ul organismelor superioare. Acesta ar putea da însă explicaţia prezenţei unor clase de proteine cu un număr foarte mare de individualităţi, puţin diferite una de alta ca secvenţă de aminoacizi. O astfel de categorie o constituie imunoglobulinele.

V. LANŢURI POLIPEPTIDICE OMOLOGE EXISTENTE ÎNTR-UN NUMĂR FOARTE MARE ÎN ACELAŞI ORGANISM

Cea mai sigură cale de explicare a diversităţii discrete şi probabil enorme a imunoglobulinelor pare s-o constituie mecanismele evolutive descrise anterior de duplicări succesive urmate de diversificare (33, 39). Eterogenitatea acestor proteine poate fi astăzi explicată în termeni de structură.

În esenţă, orice moleculă de imunoglobulină este formată din unităţi structurale asemenea, alcătuite fiecare din două lanţuri uşoare de acelaşi fel (g. m. ~ 20 000), unite între ele prin legături disulfidice de o pereche de lanţuri grele (g. m. ~50 000), de asemenea identice între ele (fig. IV, 8). Lanţurile grele sînt legate unul de altul prin punţi -S-S-. Clasele diferite de imunoglobuline se datorează existenţei, de exemplu la om, a 2 (foarte probabil 3) tipuri de lanţuri uşoare şi a 10 tipuri de lanţuri grele. Oricare din tipurile de lanţuri uşoare se pot asocia cîte două cu indiferent care tip de pereche de lanţuri grele (tabelul IV, 5).

TABELUL IV, 5

Clasele imunoglobinelor umane

(după D. Cioli., C. Baglioni — The Structure of Human Immunoglobulins, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1968, 50, 62.)

Lanţ greu	Lanţ uşor	Formula moleculară	Clasa
γ^a	k, λ	$(\gamma_a k)_2$; $(\gamma_a \lambda)_2$	IgGa
γ^b	k, λ	$(\gamma_b k)_2$; $(\gamma_b \lambda)_2$	IgGb
γ^c	k, λ	$(\gamma_c k)_2$; $(\gamma_c \lambda)_2$	IgGc
γ^d	k, λ	$(\gamma_d k)_2$; $(\lambda_d \lambda)_2$	IgGd
αa	k, λ	$(\alpha_a k)_2$; $(\alpha_a \lambda)_2$	IgAa
αb	k, λ	$(\alpha_b k)_2$; $(\alpha_b \lambda)_2$	IgAb
μ	k, λ	$[(\mu k)_2]_5$; $[(\mu \lambda)_2]_5$	IgM
δ	k, λ	$(\delta k)_2$; $(\delta \lambda)_2$	IgD
ε	k, λ	$(\varepsilon k)_2$; $(\varepsilon \lambda)_2$	IgE

Lanţurile uşoare se caracterizează printr-o secvenţă de 213—220 de aminoacizi. Fiecare lanţ uşor prezintă o porţiune N terminală (primii 109—110 aminoacizi), variabilă (V), în funcţie de antigenul împotriva căruia este îndreptat respectivul anticorp şi o a doua jumătate C terminală de dimensiuni sensibil egale, constantă (C) pentru tipul de lanţ uşor dat (k sau λ). În porţiunea C se întîlnesc înlocuiri de aminoacizi în anumite poziţii, care dau diverse variante genetice (alele) pentru tipul de lanţ uşor respectiv. Astfel, variantele Inv ale lanţurilor k se deosebesc prin aminoacidul din poziţia 191 (Val în Inv b^+ şi Ile în Inv a^+). În lanţurile aproape de această poziţie, la restul 190 se găsesc aşa-numitele variante Oz (cu Arg sau cu Liz). Cum aceste variante se găsesc mereu împreună la acelaşi individ şi nu segregă la descendenţi (nu sînt alele) indică două regiuni de codificare a porţiunii respective din lanţurile λ (53). Se cunosc şi alte înlocuiri, dar deocamdată nu se poate indica dacă este vorba despre variante genetice sau nu. Compararea secvenţelor C ale lanţurilor k cu cele din λ a indicat o omologie mult mai mare decît se poate aştepta prin pură întîmplare, ceea ce a dus la presupunerea unei origini filogenetice comune pentru porţiunile constante ale lanţurilor k şi λ (39).

Porţiunile V ale lanţurilor uşoare ridică probleme deosebit de dificile pentru biologia moleculară. Astfel pot exista între 10^2 şi 10^4 porţiuni variabile diferite pentru aceeaşi porţiune C. Izolarea unor mARN de o lungime corespunzătoare din celulele producătoare de anticorpi (cit. 33) indică probabil necesitatea continuităţii regiunii de codificare a porţiunii V cu cea pentru C. Cel mai simplu de interpretat acest lucru pare să fie prin existenţa unor gene

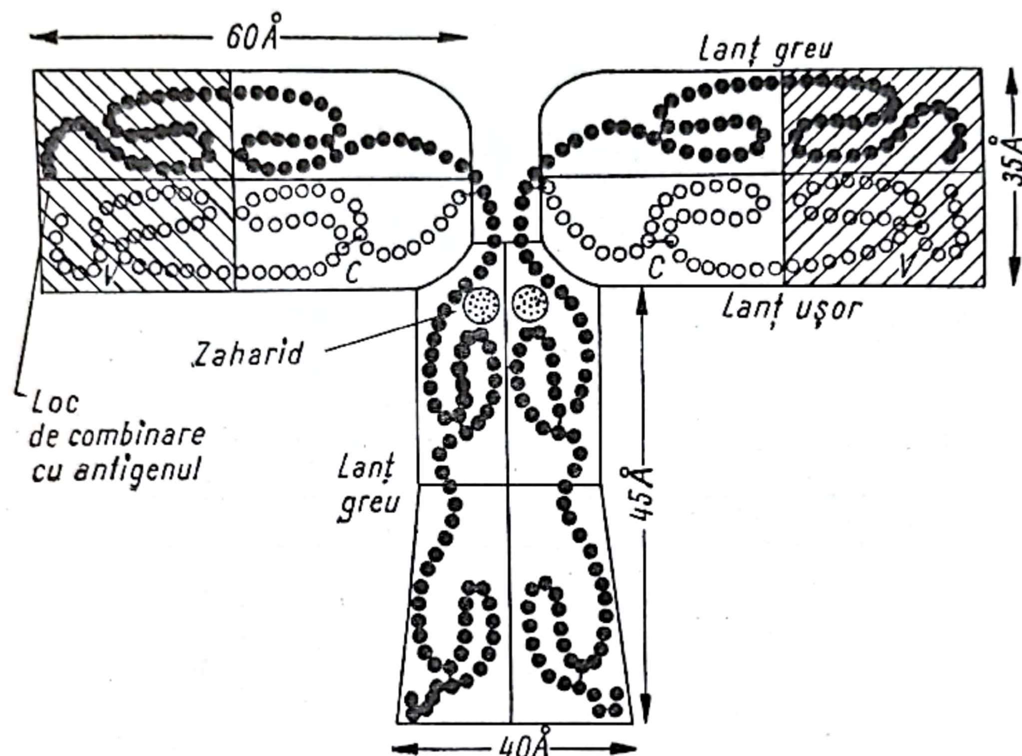


Fig. IV, 8. Schema de alcătuire a unei molecule de imunoglobulină 7 S. În *negru*—lanţurile grele; în *alb*—cele uşoare; *porţiunea haşurată* — secvenţele variabile. De remarcat simetria buclelor închise prin legături —S—S— pe fiecare lanţ.

separate pentru V (în număr de 10^2—10^4), asociate fiecărei gene C. Prin separarea clonelor de celule imunoformatoare rămîne cîte o singură genă V diferită de la clonă la clonă pentru a se uni cu gena C. În literatură se menţionează numeroase mecanisme pentru explicarea acestui paradox aparent (53).

Cu toate deosebirile între diverse secvenţe V, între acestea se poate observa o omologie netă (în general peste 40%). Aceste asemănări au permis gruparea secvenţelor variabile în 3 grupe pentru lanţurile k şi în 4 grupe pentru lanţurile λ (cit. 33), în cadrul cărora deosebirile sînt mai mici. De asemenea, toate secvenţele V păstrează 2 cisteine (similare celor din regiunea C), care permit prin formarea unei legături -S-S- închiderea unei bucle de 60 aminoacizi. Interpretarea acestor date indică o genă comună pentru regiunile C şi V, care codifică în jur de 110 aminoacizi. Prin duplicări ulterioare au apărut cistronii pentru C şi V, aceştia din urmă duplicîndu-se excesiv. Grupele de secvenţă V ar indica origini mai recente ale lanţurilor din cadrul aceleiaşi grupe (fig. IV, 8).

Pentru lanţurile grele există mai puţine informaţii. Cu toate acestea pare sigur că şi în cazul lor se poate deosebi o jumătate N terminală variabilă (V) şi o jumătate constantă (C), spre capătul C terminal (33, 46, 53). Lungimea lor este de aproximativ 440 de aminoacizi, dublă faţă de cea a lanţurilor uşoare. Comparativ cu acestea, lanţurile grele au cîte 4 bucle de cîte 60 de aminoacizi, închise prin legături -S-S-, 2 bucle în regiunea V şi alte 2 bucle

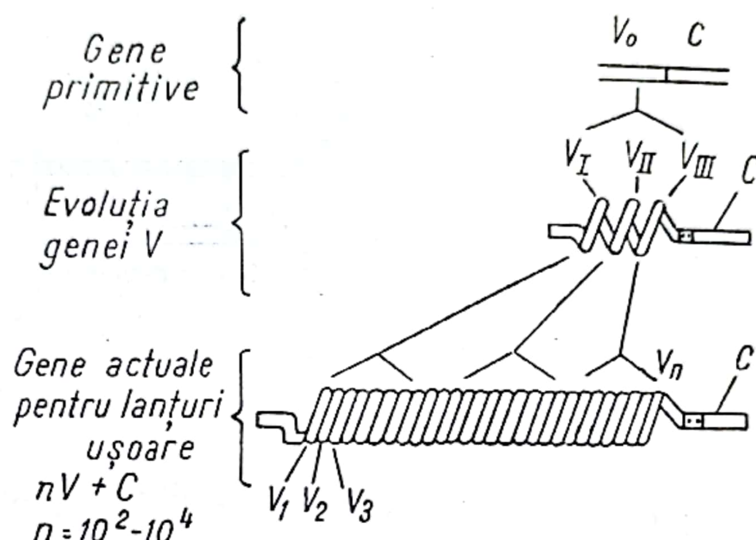


Fig. IV, 9. Schema evoluţiei genelor pentru lanţurile uşoare. Se presupun gene separate pentru V şi C (vezi textul). Duplicările succesive ale genei V au dat la început precursoarele grupurilor de V şi apoi pe rînd toate celelalte gene actuale. Prin diferenţierea celulelor imunoformatoare din toate genele V numai una singură rămîne final ataşată de C, restul fiind excizate [*după H. Hilschmann* (33)].

în regiunea C. O serie de alte omologii de structură au dus la ipoteza apariţiei lanţurilor grele prin duplicare, prin sudare cap la cap, a unei gene ancestrale a lanţurilor uşoare (cit. 6, 33) (fig. IV, 9). Similar cu situaţia de mai sus s-au găsit mai multe tipuri de lanţuri grele (în jur de 10) (tabelul IV, 5), caracterizate prin secvenţe unice în porţiunea C. Asemănarea secvenţelor în porţiunile constante ale tipurilor de lanţuri grele este de la caz la caz, mai mare (între γ_a, γ_b, γ_c şi γ_d) sau mai mică (între γ_a şi μ), dar este totdeauna prezentă, ceea ce conform deducţiilor curente indică o origine comună. Se crede că gena primitivă a lanţurilor grele a început să se duplice, dînd secvenţe repetative după apariţia peştilor cartilaginoşi, la aceştia negăsindu-se decît un singur tip de lanţ (33, 39). Pentru diversele lanţuri grele au fost de asemenea identificate diverse variante genetice cunoscute la om sub termenul de factori Gm (în jur de 20). O parte din poziţiile implicate în determinarea variantelor Gm se găsesc pe regiunea C, restul pe regiunea V, ceea ce este deosebit de situaţia prezentată la lanţurile uşoare (unde variaţia „alotipică“ este dată numai de C). Şi mai deosebit de ceea ce se ştie pentru lanţurile uşoare este că acelaşi caracter Gm din porţiunea V poate fi găsit pe lanţuri grele din clase diferite (deci asociat cu alt C). Aceasta ar indica că setul de porţiuni

variabile (10^2—10^4) poate fi folosit de oricare din porţiunile C caracteristice tipurilor de lanţ greu (γ, α, μ etc.).

O proteină înrudită cu imunoglobulinele este după toate aparenţele haptoglobina (6). Se ştie că rolul acestei proteine este de a transporta hemoglobina extraeritrocitară. Combinarea haptoglobinei cu hemoglobina este deosebit de specifică, asemănîndu-se în multe privinţe cu reacţia antigen-anticorp. Astfel, ea

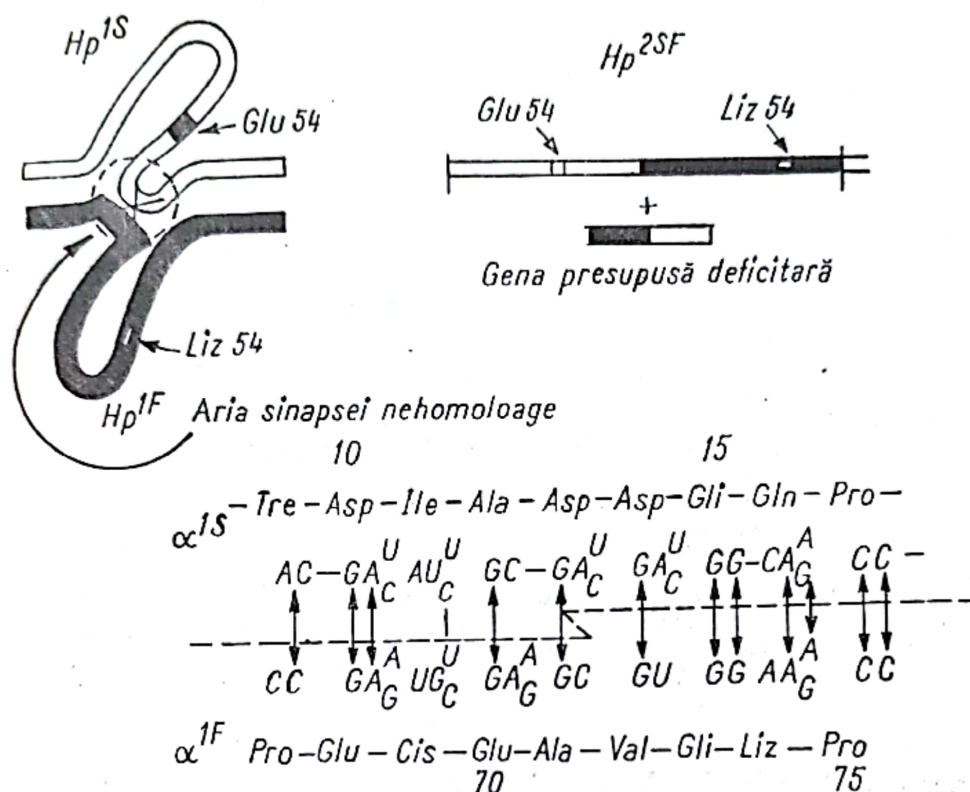


Fig. IV, 10. *Crossing over* aberant care explică apariţia genelor α^2 de dimensiuni duble din două α originare. Se indică porţiunea care conţine poziţia 54 pentru variantele *slow* şi *fast* (S şi F), codonii corespunzători regiunilor implicate în *crossing-over* şi modul de împerechere aberantă a bazelor [*după* J. A. Black *şi* G. H. Dixon (6)].

se poate combina numai cu forma oxigenată a Hb., nu şi cu cea deoxigenată şi de asemenea nu reacţionează cu mioglobina. S-a evidenţiat faptul că o moleculă de haptoglobină are două locuri de legare a Hb. similar cu cele două locuri de legare a antigenului pe anticorp (6). Se ştie din capitolele anterioare că moleculele de haptoglobină Hp 1—1 sînt formate din 2 subunităţi mici α legate de una mai mare β. Secvenţa subunităţii α conţine 83 de aminoacizi, iar variantele care duc la Hp $1—1^S$ şi Hp $1—1^F$ sînt date de înlocuirea în poziţia 54 a unui acid glutamic cu o lizină. Compararea secvenţei de aminoacizi a subunităţii α a haptoglobinei cu a celor din lanţurile uşoare de imunoglobuline a dus la remarcarea unei omologii deosebite. Se crede că gena haptoglobinei s-a desprins prin duplicare din gena ancestrală a lanţurilor uşoare înainte ca aceasta să-şi dubleze dimensiunile prin sudare cap la cap. Se ştie că subunităţile α_2 prezente în haptoglobinele de tip Hp-2 au dimensiuni duble faţă de

obişnuit. Determinarea secvenţei de aminoacizi în subunităţile α_2 a precizat locul sudării a 2 gene obşnuite. α_2 are 142 de aminoacizi, dintre care primii 70 sînt cei găsiţi în mod obişnuit, următorii pînă la capătul C terminal fiind cei găsiţi în α, începînd cu poziţia 12.

Astfel, secvenţa găsită în α între 12 şi 70 există de 2 ori în α_2 (respectiv 12—70 şi 71—129).

Explicaţia sudării genelor rezultă din figura IV, 10, unde se indică existenţa unor codoni asemănători între două regiuni diferite ale genei, ceea ce dă posibilitatea unui *crossing over* aberant. Evident, ar trebui să existe la anumite persoane şi gena defectivă mai scurtă, a cărei produs nu a putut fi încă identificat în populaţia umană. Apariţia genei α_2 este deosebit de recentă, deoarece maimuţele superioare nu o au. Mai mult chiar, această genă a apărut după mutaţiile care dau variantele F şi S. De fapt au putut fi caracterizate polipeptide α_2 cu Glu în poziţia 54 şi Liz în poziţia 113 (corespunzînd lui 54 originar, deci o α^{2SF}. Similar au fost găsite şi α^{2FS}, adică cu Liz 54 şi Glu 113. Apariţia genei α_2 aduce o serie de avantaje funcţionale, care pot fi considerate ca evolutive. Hp-2 sînt mai eficace în captarea hemoglobinei ca şi în modificarea proprietăţilor acesteia. Este, cu alte cuvinte, o genă în plin proces de evoluţie (6) (fig. IV, 10).

Rezumînd am putea spune că foarte probabil, toate lanţurile cunoscute astăzi pentru porţiunile V şi C ale lanţurilor uşoare şi grele, ca şi pentru subunităţile α ale haptoglobinei au o origine filogenetic comună, ele reprezentînd un model de duplicare excesivă a unor regiuni din ADN. Procesul de diversificare continuă şi în prezent, ceea ce se poate vedea din rata relativ mare de mutaţii ale acestor proteine.

TABELUL IV, 6

Rata de mutaţii pentru diverse proteine

(după 70)

Proteina	Număr de mutaţii/ 100 000 000 de ani
Fibrinopeptide	90
STH	60
Imunoglobine	34
Regiunea C a lanţurilor k	40
Regiunea V a lanţurilor k	34
Regiunea C a lanţurilor grele	28
Ribonucleaze	30
Hemoglobine	12
Mioglobine	9
Insuline	4
Citocromii c	3
Gliceraldehid-3-fosfatdehidrogenază	2
Histone (fracţiunea IV)	0,06

Alte proteine care ar putea fi explicate prin prezenţa unor gene repetative sînt proteinele „receptor“ din membranele celulelor. Prezenţa acestor proteine, deocamdată în mare parte ipotetice, ar putea explica multe fenomene biologice, cum ar fi excitabilitatea, migrarea specifică şi agregarea celulelor în organogeneză, captarea specifică a o serie de macromolecule, recunoaşterea

diferiţilor hormoni polipeptidici de către celulele „ţintă", simţul mirosului etc. (19). Analogia cu anticorpi este evidentă, cu atît mai mult cu cît se presupune că în celulele imunoformatoare, mitoza ar fi declanşată prin unirea specifică a unei proteine de membrană cu antigenul „prelucrat" într-un fel oarecare (cit. 38).

VI. SECVENŢE REPETITIVE CARE NU CODIFICĂ PROTEINE

Se ştie din genetica moleculară că pe lîngă proteine în ADN sînt codificate şi rARN şi ARN de transport (tARN). De asemenea se ştie că există gene de reglare care fie codifică proteine represor, fie servesc drept locuri de iniţiere a replicării ARN, recunoscute şi blocate de represori.

Deşi deocamdată există relativ puţine date asupra acestor gene, există indicaţii că procesele de duplicare, mutaţii prin înlocuiri de baze, deleţii şi inserţii se aplică şi în cazul lor. Aşa cum s-a amintit există numeroase gene care codifică ARN ribozomiali (la organismele superioare de ordinul a 10^3), ceea ce indică evident un proces de duplicare deosebit de intens. Procesul de duplicare a genelor care codifică rARN se petrece în plus chiar în timpul ontogenezei (12), ca un mecanism fiziologic de „amplificare" a informaţiei genetice. Compararea secvenţelor de baze cunoscute, dar mai ales a raporturilor G+C/A+U la rARN din surse diferite a indicat un grad de omologie foarte marcat între specii înrudite. Se pare deci că rARN au o rată de mutaţii destul de mică (1) (cit. 38, 63). Asemănător se ştie că regiunile de codificare a tARN sînt mult mai întinse decît ar fi necesar pentru o singură reprezentare a fiecărui tip (9). Sînt cunoscute astăzi în jur de 15 secvenţe de nucleotide pentru tARN provenind de la bacterii, drojdii şi mamifere (cit. 51). Toate aceste secvenţe cuprind un număr apropiat de nucleotide (80 ± 5) şi pot fi aranjaţi în modelul „frunză de trifoi", imaginat de R. W. Hooley (cit. 51). Compararea lor a indicat cel puţin 16 baze care se găsesc în poziţii identice (plus cele 3′ terminale care nu sînt codificate de ADN) (fig. IV, 11). Împreună cu alte omologii structurale, aceasta a permis emiterea ipotezei după care toate tARN ar avea la origine o singură genă, care, prin duplicări, mutaţii, inserţii şi deleţii, a dat diversitatea actuală (51) (fig. IV, 11).

Referitor la genele reglatoare a fost emisă o ipoteză deosebit de atrăgătoare. Se poate presupune, după M. R. Pollock (52), că toate genele care aparţin unui operon au apărut prin duplicări succesive din una singură ancestrală (34). Gena reglatoare care codifică represorul ar avea aceeaşi origine, iar proprietatea acestei proteine de a lega substrate (sau produse) ale enzimelor codificate de genele structurale ar fi dovada unui „centru activ" cu o structură încă asemănătoare (52).

Situaţia, aşa cum s-a amintit de mai multe ori în cuprinsul capitolelor de biologie moleculară, este mult mai complicată la celulele organismelor superioare. Există însă cu siguranţă şi în acest caz gene reglatoare, dintre care unele par să intervină prin codificarea unor ARN activatoare care deblochează genele de structură din combinaţia acestora cu histonele (9). Este probabil că multe din secvenţele repetitive evidenţiate în ADN codifică tocmai asemenea ARN activatori.

În încheiere am vrea să subliniem faptul că abordarea proceselor filogenetice la nivel molecular dă posibilitatea interpretării integrative a diverselor variante genetice întîlnite în lumea vie, dintre care unele au semnificaţii patologice (cazul bolilor moleculare la om), a asemănării de structură şi a importanţei acesteia pentru clase diverse de proteine şi indică căi de abordare a cel puţin uneia dintre ultimele frontiere ale biologiei moleculare procesul ontogeniei. Se naşte astfel o ştiinţă nouă, al cărei scop final ar putea să fie, suprema dorinţă umană, acela de a dirija evoluţia, inclusiv pe cea a speciei proprii.

Fig. IV, 11. Schema generalizată a tARN. Poziţiile indicate prin puncte sînt variabile, cele indicate prin litere sînt ocupate de bazele corespunzătoare invariabil sau (pentru literele barate) cel mai adesea de acestea [*după G. R. Phillips* (51)].

BIBLIOGRAFIE

1. Amaldi F. — *Nature*, 1969, 221, 95.
2. Anfinsen C. B. — The Molecular Basis of Evolution, Ed. J. Wiley si Sons, New Jersey, 1959.
3. Bonner J., Dahmus M. E., Fambrough D., Hunag R. C., Marushige K., Tuan D. Y. H. — *Science*, 1968, 159, 47.

4. Bradshaw R. A., Kretsinger R. H., Gurd F. R. N. — *J. biol. Chem.*, 1969, 244, 2 159.
5. Baglioni C. — Molecular Genetics, vol. I, edit. J. H. Taylor, Academic Press, 1963, New York — Londra, p. 405.
6. Black J. A., Dixon G. H. — *Nature*, 1968, 218, 736.
7. Braun V., Hilse K., Best S. J., Flamm V., Braunitzer G. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1967, 49, 935.
8. Braunitzer R. G., Braun V., Hilse K., Hobom G., Rudloff V., Wettestein G. von — Evolving Genes and Proteins, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 183.
9. Britten R. J., Davidson E. H. — *Science*, 1969, 165, 349.
10. Britten R. J., Kohne D. E. — *Science*, 1968, 161, 529.
11. Brodbeck V., Denton W. L., Tanahasi N., Ebner K. E. — *J. biol. Chem.*, 1967, 242, 1 391.
12. Brown D. B., Dawid I. B. — *Science*, 1968, 160, 272.
13. Buettner-Janusch J., Hill L. R. — Evolving Genes and Proteins, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 167.
14. Chauvet J., Chauvet T. M., Crépy D., Acher R. — 6th Intern. Congr. Biochem., New York, 1964, Abstracts II, 145.
15. Dauteaux M., Boulanger Y. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1967, 49, 949.
16. Davidson B. E., Sajgo M., Noller H. F., Harris J. I. — *Nature*, 1967, 216, 1 181.
17. Delancourt J., Lebor A. S., Zuckerkandl E. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1967, 49. 577.
18. Drake J. W., Allen E—F., Forseerg S. A., Preparata R. M., Greening E. D. — *Nature*, 1969, 221, 1 128.
19. Dreyer W. S., Gray W. R. — Nucleic Acids in Immunology, edit. Plescia Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 614.
20. Fitch W. M. — *J. Mol. Biol.*, 1966, 16, 9.
21. Fitch W. M. — *J. Mol. Biol.*, 1966, 16, 17.
22. Florkin M. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1963, 45, 613.
23. Fondy T. P., Everse J., Driscoll A. G., Castillo F., Stolzenbach E. F., Kaplan N. O. — *J. biol. Chem.*, 1965, 240, 4 219.
24. Freese E. — Molecular Genetics, vol. I, edit. J. H. Taylor, Academic Press, New York, 1963, p. 207.
25. Freese E., Yoshida A. — Evolving Genes and Proteins, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 341.
26. Kaplan N. O. — Evolving Genes and Proteins, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 243.
27. Garen A. — *Science*, 1968, 160, 149.
28. Groskopf W. R. Summaria L., Robbins K. C. — *J. biol. Chem.*, 1969, 244, 3 590.
29. Harris I. — *Nature*, 1964. 203, 31.
30. Harris I., Perham N. R. — 6th Intern. Congr. Biochem., New York, 1964, Abstracts IV, 293.
31. Hartley B. S., Brown J. R., Kauffman B. L., Smillee L. B. — *Nature*, 1965, 207, 1 157.
32. Hill R. L., Harris C. M., Naylor J. F., Sams W. M. — *J. biol. Chem.*, 1969, 244, 2 182.
33. Hilschmann N. — *Naturwis*, 1969, 4, 195.
34. Horowitz H. N. — Evolving Genes and Proteins, edit. V. Bryson. H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 15.
35. Ikenaka T., Schmid K. — *Nature*, 1967, 215, 66.
36. Ingram V. M. — *Nature*, 1961, 189, 704.
37. Lord C. D., McConaughy B. L., McCarty B. J. — *Nature*, 1969, 224, 149.
38. Lennox E. S., Cohn M. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, 36, 365.
39. Luzzato L., Usanga E. A., Reddy S. — *Science*, 1969, 164, 839.
40. Manta I. — Biologia moleculară și medicina modernă, edit. O. Fodor, Ed. medicală, București, 1969, p. 9 și p. 146.

41. Manta I., Bârzu O. — Biologia moleculară și medicina modernă, edit. O. Fodor, Ed. medicală, București, 1969, p. 40.
42. Morse D. E., Horecker B. L. — *Science*, 1968, 161, 813.
43. Nance W. E., Smithies O. — *Nature*, 1963, 198, 869.
44. Nei M. — *Nature*, 1969, 221, 40.
45. Neuıtah H., Walsh K. A., Winter W. P. — *Science*, 1967, 158, 1 638.
46. Nolan C., Margoliash E. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1968, 37, 727.
47. Okada Y., Streininger G., Emrich J., Newton J., Tsugita A., Inouye M. — *Science*, 1968, 162, 807.
48. Ostretang W., Smith E .W. — *Europ. J. Biochem.*, 1969, 10, 371.
49. Perutz M. F. — *Nature*, 1969, 224, 269 și Perutz M. F., Muirhead H., Mazzarella L. Crowther R. A., Greer J., Kilmartin J. V — *Nature*, 1969, 222, 1 240.
50. Phillips D. C. — 7th Intern. Congr. Biochem., Tokyo, 1967, Proc. 63.
51. Phillips G. R. — *Nature*, 1969, 223, 374.
52. Pollock M. R. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1967, 49, 633.
53. Putnam F. W. — *Science*, 1963, 163, 633.
54. Rudolf V. — 6th Intern. Congr. Biochem. New York, 1964, Abstracts III, 208.
55. Sager R. — Evolving Genes and Proteins, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, p. 591.
56. Sarabhai A. S., Stretton A. O. W., Brenner S., Bolle A. — *Nature*, 1964, 201, 13.
57. Schroeder A. W. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1963, 32, 301.
58. Schroeder W. A., Huisman T. H. J., Shelton J. R., Kleihauer E. F., Dozy A. M., Robberson B. — *Proc. nat. Acad. Sci.* (*Wash*), 1968, 60 537.
59. Smillie L. B., Furka A., Nagabhushan N., Stevenson J. K., Parkers C. O. — *Nature*, 1968, 218, 343.
60. Sueoka N. — Evolving Genes and Proteins, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, 479.
61. Tsugita A., Inouye M., Terzaghi A. E., Emrich J., Okada Y., Streisinger G. — 7th Intern. Congr. Biochem. Tokyo, 1967, Abstracts I, 19.
62. Urbain J. — *Rev. franç. Étud. clin. Biol.*, 1969, 14, 735.
63. Walker P. M. B. — *Nature*, 1968, 219, 228.
64. Wallace H., Birnstein M. I. — *Biochim. biophys. Acta*, 1966, 114, 296.
65. Whiteley H. R., Whiteley A. M., McCarthy B. I. — 7th Intern. Congr. Biochem. Tokyo, 1967, Abstracts V, 1 037.
66. Yanofsky C. — *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.*, 1963, 28, 581.
67. Zinkham W. H., Isensee H., Renwick J. H. — *Science*, 1969, 164, 185.
68. Zuckerkandl E., Pauling L. — Horizonts in Biochemistry, edit. M. Kasha, B. Pullman, Academic Press, New York — Londra, 1962, 189.
69. Zuckerkandl E., Pauling L., — Evolving Genes and Proteins, edit. V. Bryson, H. J. Vogel, Academic Press, New York — Londra, 1965, 97.
70. X X X — *Nature*, 1969, 224, 313.

Capitolul al V-lea

ANALIZA VARIABILITĂŢII DATORITE GENELOR MAJORE CU AJUTORUL STUDIILOR FAMILIALE

L. Sulică

Factorii responsabili de producerea unei boli la o persoană dată pot fi clasificaţi, în mare, în două categorii:

a) Intrinseci, transmişi oului fecundat de la părinţi.

b) Extrinseci, care acţionează din momentul concepţiei pînă în momentul examinării şi care modifică organizarea individului.

Studiul etiologic al bolilor constă în esenţă din compararea distribuţiei bolii în grupe care prezintă similitudini de vîrstă, sex, rasă, ocupaţie, în scopul de a caracteriza colectivităţi de bolnavi şi de sănătoşi şi de a discerne acei factori care pot avea legătură cu apariţia bolii într-o populaţie dată. Aglomerarea familială a cazurilor de boală permite studierea şi evaluarea determinanţilor moşteniţi care au semnificaţie în etiologia bolii.

Caracterul binar al aparatului genetic la organismele cu reproducere sexuată permite realizarea de modele simple matematice privind atît expectaţia genetică la urmaşii proveniţi din părinţi comuni, cît şi expectaţia în populaţia generală. Studiile familiale în cel mai strict sens se referă numai la studii de segregare şi „*linkage*", dar în practică se încearcă să se obţină relaţii auxiliare, care permit, în ipoteza unor modele genetice bine definite, să se abordeze probleme variate care nu sînt accesibile în mod direct altor metodologii.

După David, Neel, Schull, Steinberg, Morton etc. se consideră drept criterii sugestive, pentru existenţa unor factori genetici în bolile sau trăsăturile de origine necunoscută, următoarele: o mai mare frecvenţă în rîndul rudelor decît în populaţia generală; o concordanţă crescută a perechilor de gemeni monozigoţi faţă de dizigoţi; o frecvenţă crescută a defectelor, mai ales biochimice, la acelaşi nivel sau în acelaşi sistem funcţional la rude faţă de populaţia generală; consanguinitate crescută în cazul unei presupuse trăsături recesive, cît şi o vîrstă caracteristică de instalare a bolii. Toate aceste criterii se verifică cu ajutorul studiilor familiale, însă nici unul sau nici o combinaţie a criteriilor amintite nu poate furniza dovada certă a unei etiologii genetice. Niciodată nu se poate înlătura cu certitudine cauzalitatea datorită mediului. Totuşi, metoda genetică este valoroasă, deoarece variaţia genetică neîntîmplă-

toare este încorporată în structura unui model genetic dat, pe cînd variația datorită mediului se distribuie la întîmplare între membrii familiilor.

Studiile genetice familiale sînt expuse la numeroase servituți metodologice care trebuie eludate, cînd este posibil, sau cel puțin trebuie cunoscute, pentru a se evita concluziile eronate care aproape totdeauna sînt mai dăunătoare decît ignoranța.

Dificultățile și limitările studiilor genetice familiale țin de mai multe fapte, dintre care cele mai importante sînt:

— Imposibilitatea frecventă de a cunoaște constituția genetică, mai ales în legătură cu penetranța redusă a acestei constituții.

— O dificultate derivată din categoria amintită rezultă din împrejurarea că aceeași entitate morbidă se poate moșteni în mai multe feluri. În legătură cu acest punct se impune distincția dintre cazurile sporadice și cele familiale.

— Dimensiunile reduse ale familiilor omenești sînt o cauză caracteristică de dificultate.

Aceste surse de dificultate cel mai adesea se interferează și trecerea lor în revistă nu poate păstra totdeauna o separare netă a problemelor.

S-a arătat că agregarea familială este o condiție esențială pentru afirmarea bazei ereditare, fie ea monogenică sau poligenică. O dificultate incipientă rezultă din greutatea unei selecții nepărtinitoare a familiilor; dacă o familie cu mai multe cazuri de boală are o șansă mai mare de a fi colectată pentru studiu vom constata în mod obligatoriu o agregare familială. Agregarea familială chiar corect obținută nu poate constitui o dovadă directă pentru existența unor factori ereditari, deoarece ea poate fi și rezultatul unor elemente din mediu, cum s-a mai spus, care ca și genele variază de la o familie la alta. Foarte des accentul trebuie pus pe acești factori de mediu și pe obiceiurile ereditare și nu pe determinanța ereditară. Faptul că proporția de copii afectați variază după cum ambii sau nici unul din părinți nu este afectat, nu este o dovadă sigură de transmitere genetică, deoarece factorii de mediu prezenți la unul sau ambii părinți pot avea același rezultat asupra proporției de urmași afectați.

Un pas în plus se realizează prin desemnarea arborilor genealogici, adică în esență prin compararea frecvențelor observate la copiii proveniți din tipuri de părinți diferiți fenotipic în privința unei trăsături date, cu frecvențele așteptate conform variatelor ipoteze genetice. Analiza arborilor genealogici, pe lîngă că se referă la boli monogenice, se poate realiza numai în cazul bolilor genetice rare. Această limitare rezultă din lipsa de concordanță dintre genotip și fenotip. În cazul frecvențelor crescute ale genelor producătoare de boli monogenice nu se poate face distincția între transmiterea recesivă și dominantă pe baza studierii aspectelor fenotipice ale părinților și copiilor. De exemplu, în cazul unei trăsături dominante, știm că pentru gene rare bolnavul va fi în imensa majoritate a cazurilor un heterozigot, ca și unul din părinții săi, iar copiii vor fi jumătate afectați similar. O frecvență genică crescută în cazul unei trăsături recesive poate avea același efect observabil prin realizarea proporției de 1/1 în rîndul copiilor cînd un părinte homozigot bolnav întîlnește cu ușurință un partener purtător. De asemenea, în cazul că ambii părinți sînt afectați, urmașii vor fi toți afectați chiar în cazul transmiterii dominante

prin aceea că este vorba de părinți ambii homozigoți sau unul homozigot și altul heterozigot dominant și aceasta tot datorită frecvenței genice crescute. Astfel se anulează valoarea unui criteriu important de recunoaștere a transmiterii recesive, care constată toți copiii afectați cînd provin din părinți homozigoți afectați. Rezultă că analiza arborilor genealogici furnizează date utilizabile numai în cazul trăsăturilor fenotipice rare și ale caracterelor biochimice rare, monogenice, care pot constitui o parte a fondului de predispoziție în bolile poligenice, trăsături ce se comportă conform legii „totului sau nimic", adică variază discontinuu.

O variație continuă, proprie bolilor comune cu fond ereditar poligenic, nu are ca rezultat o segregare netă a fondului genic în arborii genealogici, realizînd astfel un amestec variabil al cazurilor, care desfide a analiză genetică de tipul celor în uz pentru caracterele monogenice. Acest impediment în cazul bolilor comune datorită atît mediului, cît și eredității poligenice poate fi evitat prin metoda sugerată de Penrose, care constă din compararea sibilor de același sex, unul posesor al trăsăturii în studiu și celălalt servind drept control. Această metodă care evită și eroarea datorită stratificării genetice se poate asimila numai într-un sens foarte larg studiilor familiale. Ea este utilă în argumentarea asocierii cauzale a bolilor comune cu marcatori genetici.

Penetranța redusă constituie alt handicap al studiilor genetice. Vorbim de penetranță redusă cînd nu toate persoanele de o anumită constituție genetică manifestă acel fenotip prin care se recunoaște clasa respectivă, adică atunci cînd nu toate care posedă o doză unică de genă în cazul dominanței și 2 gene în cazul recesivității prezintă trăsături în discuție. Ea se exprimă în proporții variabile sub totalul de 100% al penetranței complete. Penetranța incompletă nu introduce nici un principiu teoretic nou, ci este vorba doar de alte gene (gene modificatoare sau de factori intra- sau extrauterini), care afectează în aceste cazuri rezultatul vizibil în așa măsură că gena în discuție se exprimă numai pe un anumit fond și nu în alte condiții. Consecințele practice sînt însă foarte importante, deoarece numai o penetranță completă sau aproape completă prezintă o bază solidă pentru realizarea proporțiilor teoretice ale transmiterii simple mendeliene. Invers, cînd într-o boală evident ereditară, analiza arborilor genealogici sau a fratriilor nu poate decide între transmiterea dominantă sau recesivă, se poate invoca cu mare probabilitate ideea penetranței reduse. Astfel de ambiguități în studiul fratriilor necesită pentru tranșare probe independente, altele decît cele legate de studiul fratriilor. O astfel de probă o constituie prezența unui procent crescut de consanguinitate la părinții celor afectați, pledînd pentru recesivitate și lipsa consanguinității indicînd dominanța. Procentul penetranței poate fi aflat cu ușurință în experimentele pe animale, care pot fi încrucișate selectiv. Totuși și la oameni se poate calcula penetranța, dacă fenotipul este suficient de răspîndit pentru a interesa un număr suficient de perechi de gemeni monozigoți. Calcularea procentului de perechi discordante de astfel de gemeni dă relații satisfăcătoare privind penetranța. Se știe că gemenii monozigoți au o constituție genetică identică și manifestările fenotipice imputabile acesteia trebuie să fie concordante dacă penetranța este completă fie că este vorba de dominanță, receptivitate sau transmitere ereditară complexă. Dacă dispunem numai de gemeni dizigoți sau

persoane născute izolat, aprecierea penetranţei trebuie să se bazeze pe prezumţii alternative. Astfel se poate imagina, pe acelaşi material faptic, la fel de justificat, o penetranţă scăzută pentru o alelă presupusă dominantă sau penetranţă crescută pentru un fenotip presupus recesiv. Valorile penetranţei rezultate din studiul negemenilor descriu deci mai mult o situaţie în general şi nu au valoare diagnostică în ceea ce priveşte modul de transmitere.

Alt aspect al penetranţei incomplete este dat de bolile care prezintă un registru larg al vîrstei de instalare. Coreea Huntington se prezintă ca o boală a cărei penetranţă este zero în primii 2—3 ani de viaţă, iar la vîrsta de 70 de ani este încă sub proporţia de 100% a penetraţiei complete. O serie de boli care au vîrsta medie de instalare relativ tardivă permit celor stigmatizaţi să constituie familii numeroase (diabet, glaucom, unele distrofii musculare şi mai multe tipuri de psihoze). Studiul datelor privind aceste boli a dat naştere teoriei anticipaţiei conform căreia vîrsta medie de instalare a suferinţei la copii este mai scăzută decît media vîrstei de apariţie a aceleiaşi boli la părinţi. Cînd se compilează datele privind aceste două grupe în vederea stabilirii vîrstelor medii de instalare, în comparaţie cu populaţia generală, se introduc în mod inevitabil două surse de eroare: a) cei din grupul „părinţi" sînt favorizaţi prin selecţie faţă de cei din populaţia generală care prezintă instalarea rapidă şi mai ales faţă de cei decedaţi timpuriu. Din acest motiv, vîrsta de instalare a celor ce au reuşit să devină părinţi va fi mai mare ca a populaţiei neselectate; b) o altă sursă de eroare provine din adăugarea de cazuri secundare după ce a fost identificat probantul. Vîrsta medie de instalare la copii este mai scăzută în aceste studii datorită diagnosticului mai timpuriu şi indicării de cazuri adiţionale cu apariţie tardivă în rîndul părinţilor acestor copii. Aceste surse de eroare sînt inevitabile şi explică semnalarea fenomenului anticipaţiei pentru foarte multe boli, însă teoria nu rezistă criticilor. Aprecierea procentului de penetranţă în cazul bolilor cu manifestare tardivă nu beneficiază de studiul gemenilor monozigoţi, după cum uşor se înţelege aceştia fiind de vîrste identice. Procentul se poate aprecia însă prin studii longitudinale începute la o vîrstă timpurie şi continuate riguros, cu toată dificultatea inerentă unei astfel de cercetări. Dacă este vorba de o trăsătură dominantă, care sare o generaţie, procentul penetranţei se poate aprecia din numărul de antecesori neafectaţi în linie directă, care sînt cuprinşi între strămoşul afectat şi primul bolnav din aceeaşi linie de descendenţă.

O altă piedică care complică analiza genetică familială rezultă din faptul că aceeaşi entitate clinică poate fi moştenită în diferite moduri. În acest sens, separarea cazurilor familiale de cele sporadice prezintă o dificultate deosebită. Cazurile familiale sînt acelea în care cei afectaţi din fratrie au moştenit gena sau genele pentru trăsătura în discuţie de la unul sau de la ambii părinţi. Cazurile sporadice se datoresc: mutaţiilor noi, modificărilor cromozomiale, unor complexe rare de gene care nu au şanse să se repete în cadrul fratriei, nelegitimităţii, sau se datoresc cazurilor negenetice. Din punctul de vedere al analizei familiale, toate acestea sînt fenocopii adevărate şi este de dorit să fie eliminate din studiu. Se înţelege că o parte din cazurile sporadice au aceeaşi etiologie ca şi cazurile familiale. Fracţia cazurilor sporadice poate fi apreciată, cînd gena este rară prin diferenţă între procentul de consanguinitate al

părinţilor cu un singur copil afectat şi cel al părinţilor cu mai mulţi copii afectaţi. În cazurile familiale, riscul de recurenţă este bine definit, 1/4 sau 1/2, şi depinde de modul de transmitere, dar şi de penetranţă şi viabilitate. În cazurile sporadice, riscul de recurenţă este de obicei foarte mic. Uneori este însă imposibil să se deosebească aceste două alternative, un caz izolat într-o fratrie de dimensiuni reduse se poate datori unei boli familiale care, din întîmplare, a afectat un singur copil; dacă erau mai mulţi fraţi ar fi existat mai mulţi bolnavi. Pe de altă parte, copilul afectat ar fi putut să reprezinte cazul sporadic şi nu ar fi survenit un al doilea, chiar la o dimensiune maximă a fratriei.

În afara cazurilor sporadice şi familiale, pentru multe boli, limitări tehnice fac imposibilă în prezent distincţia între două boli moştenite independent, care produc aceeaşi alterare observabilă. Dacă una dintre acestea se transmite autozom şi alta legat de sex, separarea genetică este uşoară, dar dacă ambele se transmit în acelaşi mod, ele nu pot fi analizate genetic.

O sursă importantă de dificultăţi în studiul geneticii familiale rezultă din dimensiunea redusă a familiilor omeneşti. Cunoaşterea variaţiilor privind proporţiile simple genetice în familiile omeneşti este absolut necesară pentru verificarea ipotezelor genetice. Este un fapt cunoscut că ne întîlnim destul de rar cu proporţiile ideale. Astfel, familiile cu 2 copii nu se compun totdeauna dintr-un băiat şi o fată şi nici o monedă aruncată în aer nu cade alternativ pe o faţă sau alta. Aceste observaţii obişnuite pot fi trecute însă cu vederea cînd se analizează legile eredităţii, fie că acestea se aplică la proporţia sexelor, la proporţia 3:1 sau la alte proporţii dintre două sau mai multe categorii. Deşi căutăm certitudini şi preferăm proporţiile ideale trebuie să acceptăm uneori deviaţii foarte mari de la proporţia ideală. Din aceste motive se impune un cadru de referinţe unitar şi inteligibil pentru aceste abateri şi o astfel de unificare se poate obţine prin cunoaşterea probabilităţilor fiecărei alternative posibile în familiile umane. O trăsătură caracteristică a acestor familii de dimensiunea redusă impune folosirea unei metode adecvate analizei numerelor mici. Fratrii chiar de 30 de persoane sînt din punct de vedere statistic la limita numerelor mici şi bineînţeles sînt cu totul excepţionale.

De la început trebuie să subliniem diferenţa între parametru şi întîmplare. Parametrul reprezintă expectaţia adevărată, cunoscută sau nu, aşa cum există ea în natură. Presupunem deci că orice parametru operează constant în cursul colectării datelor şi prin aceasta determină expectaţia generală. Un astfel de parametru poate fi raportul de 1:1, reprezentat de exemplu de formarea de indivizi de sex masculin şi feminin la fertilizare, parametru care nu se modifică cu vîrsta sau sezonul. Un alt parametru frecvent întîlnit în genetică este probabilitatea mendeliană de 3:1 care acţionează pentru fiecare urmaş al unui anumit tip de părinţi. Unii parametrii pot fi deduşi din modele simple aproape mecanice însă în biologie totdeauna ei vor fi deduşi din eşantioane colectate în condiţii de uniformitate riguroasă şi se impune în aceste cazuri utilizarea unor metode adecvate de evaluare a variaţiei care operează în eşantioanele reduse. Sînt numeroase şi convingătoare diferenţele biologice care se segregă ca şi cum ar fi influenţate de parametrul 1:1, ele asociindu-se strîns proce-

sului segregării cromozomiale. Deoarece inventarierea completă nu este posibilă din lipsă de timp, din lipsa unei tehnici adecvate sau din cauza însăşi a materialului de studiat, sîntem obligaţi să recurgem la eşantionare şi acest fapt ne obligă să gîndim în termeni de distribuţie probabilă, adică să luăm în consideraţie variaţia naturală. În cazul compoziţiei eşantioanelor pentru un fenomen controlat de parametrul 1:1, operînd în familiile omeneşti de dimensiuni reduse, ne putem uşor imagina întreaga scară de exprimare a proporţiei ideale. Pentru eşantionul de dimensiunea 1 vor exista doar două categorii, iar în cazul unei probabilităţi egale, aceste tipuri de eşantioane vor surveni cu frecvenţe egale. În cazul eşantioanelor de mărimea 2, ambii copii vor fi un tip, ambii de celălalt sau vor fi eşantioane cuprinzînd ambele feluri de copii. Tipurile de eşantioane, ca şi frecvenţele lor relative pot fi obţinute relativ simplu prin expansiunea binomului $(p+q)^n$. În această formulă, p şi q reprezintă probabilitatea parametrică a primei şi a acelei de-a doua alternative, totalul lor obligatoriu fiind 1, care este echivalentul numeric al certitudinii; n este puterea la care se ridică binomul şi reprezintă numărul de persoane independente din care se compune eşantionul. Se va ţine seama că din lipsă de independenţă, 2 gemeni identici vor conta ca un singur individ la stabilirea dimensiunilor eşantionului. O dată cu creşterea eşantionului, probabilitatea de a obţine proporţia ideală de 1:1, 2:2, 4:4, etc., scade, deşi fiecare din aceste proporţii rămîne rezultatul cel mai probabil sau modul curbei de distribuţie. Proporţii de o mai mare varietate sînt posibile pentru eşantioane mai mari pe măsură ce proporţia ideală devine mai puţin frecventă faţă de distribuţia totală. În mod similar, uşurinţa de a obţine distribuţiile extreme 2:0, 4:0, 8:0 etc. şi opusele lor scade cu creşterea dimensiunii eşantionului. De exemplu: 2:0 este de aşteptat cu o frecvenţă de 1/4 în eşantioanele de mărimea 2; 4:0 survine cu o probabilitate de 1/16 în eşantioanele de mărimea 4; 8:0 numai în 1/256 a eşantionului de mărimea 8 în condiţiile unei expectaţii egale pentru p şi q. Dispersia eşantioanelor în jurul altor parametri utilizează acelaşi principiu de calcul. Aprecierea probabilităţilor rezultate din expansiunea binomului $(p+q)^n$ pentru alte valori ale lui p şi q decît 1/2 şi 1/2 constituie metoda cea mai exactă, în special pentru eşantioane pînă la un maximum de 30 de persoane în cazul probabilităţii 3:1 şi chiar pentru eşantioane de 100 cînd operează parametrul 19:1. Regula generală este că pentru un produs $n.p.q.$ pînă la valoarea 5, probabilităţile rezultate din expansiunea binomului sînt cele mai adecvate. În cazul expectaţiei mendeliene de 3:1, care este redată în binomul $(3/4+1/4)^n$ conform regulii enunţate, probabilităţile sînt redate corect pînă la un eşantion de aproape 30 de persoane ($n.p.q. = 30 \times 3/4 \times 1/4 = 5{,}6$). Presupunînd că dintr-un anumit tip de părinţi este de aşteptat un copil dominant cu probabilitatea de 3/4 şi un copil recesiv cu probabilitatea de 1/4, decurge că frateriile cu un singur copil care să fie dominant vor constitui 3/4 din totalul frateriilor de dimensiunea 1 din acelaşi tip de părinţi, iar recesivii vor constitui restul de 1/4 din fraterii. Naşterea unui al doilea copil indiferent de ordinea apariţiei, produce 3 tipuri de fraterii. Din expansiunea binomului $(3/4+1/4)^n$ rezultă 9/16 dintre fraterii cu 2 copii dominanţi, 6/16 cu unul din fiecare şi 1/16 din fraterii cu 2 copii recesivi, corespunzător proporţiilor de 56, 37,5 şi 6% pentru expectaţia generală de 3:1.

În același mod, în cazul fraterIilor de 4 va rezulta din părinți adecvați (heterozigoți pentru o genă recesivă) numai în 42% a eșantioanelor proporția ideală de 3:1, în 31% fraterii formate numai din copii dominanți (normali) și numai în 0,4% fraterii de 4 membri toți recesivi. Cunoașterea acestor distribuții ne ajută să știm la ce rezultate ne putem aștepta în plus față de proporția cea mai apropiată de ideal. În plus este necesar să cunoaștem tipurile de fraterii care sînt tot atît de puțin probabile, ca și variațiile datorite hazardului, deoarece apariția lor cu frecvență crescută impune formularea unor ipoteze noi care să stabilească alți parametri mai adecvați rezultatului observat. Astfel este de așteptat numai în 4,7% din fraterIile de 4 să constatăm proporția de 3 recesivi la 1 dominant, în ciuda expectației generale de 3 dominanți la 1 recesiv și un astfel de rezultat poate fi interpretat atît ca o deviație rară, dar posibilă, cît și ca rezultatul unor eventuale influențe necunoscute. Pot rezulta astfel descoperiri utile din testarea unor explicații noi pentru evenimentele rare. În mod arbitrar considerăm un eveniment rar sau excepțional cînd survine în mai puțin de 5% a cazurilor doar ca o deviație întîmplătoare de la probabilitățile acceptate. Rezultă două concluzii: a) familiile luate izolat sau chiar serii mici de fraterii pot să prezinte deviații extrem de largi de la parametrii care operează de fapt; b) abaterea eșantioanelor în jurul proporției ideale poate fi apreciată cel mai bine prin metoda expansiunii binomului. Decurge în mod indirect că tot așa cum bolile rare cu parametri preciși cunosc deviații foarte mari ale eșantioanelor și bolile frecvente cu agregare familială datorită mediului sau fondului genetic pot să se conformeze întîmplător, mai ales pe serii mici, oricărui parametru simplu genetic.

În concluzie, studiile familiale se pot aplica cu profit în cazul bolilor rare monogenice sau pentru evaluarea componentelor monogenice ale bolilor cu fond ereditar poligen. În bolile comune, metoda sibilor a lui Penrose verifică asocierea cu marcatorii genetici. De asemenea, studiile genetice ale arborilor familiali pot infirma ipotezele simple care se oferă cu ușurință în cazul unor boli comune poligenice în baza colectării defectuoase și selective a unor familii izolate. Dificultățile care stau în fața realizării studiilor familiale țin de necorespondența dintre fenotip și genotip, se datoresc relației de dominanță, penetranței incomplete, cazurilor sporadice de altă etiologie sau decurg mai frecvent din dimensiunea redusă a familiilor omenești. Numai cunoașterea acestor dificultăți și utilizarea de procedee matematice uneori elaborate permit realizarea unor studii familiale riguroase.

BIBLIOGRAFIE

Dobzhansky T. — Principles of Genetics, ediția a 5-a, Ed. Mc. Graw Hill, 1958.
Falconer D. S. — An introduction in quantitative Genetics, Ed. Oliver și Boyd, 1967.
Fraser Roberts J. A. — An introduction to medical genetics, Oxford University Press, 1959.
Neel J. V., Shaw M. V., Schull W. J. — Genetics and the epidemiologic of chronic diseases, U. S. Depart. of. Healt, Education and Welfare, 1965.
Whittinghill M. — Human genetic and its foundation Reinhold Publishing Corporation, 1965.

Capitolul al VI-lea

MECANISME GENETICE ÎN IMUNITATE

T. Mureșian

Progresul rapid al cunoștințelor realizate în ultimele două decenii în domeniul imunologiei face necesară o reconsiderare a noțiunilor admise a fi clasice înainte de anul 1950. În primul rînd, elucidarea unor serii de mecanisme în reacțiile de hipersensibilizare (alergie-anafilaxie), numeroasele date obținute pe baza experiențelor din domeniul transplantărilor de țesuturi și organe și a transfuziilor sanguine și mai ales tehnicile tot mai fine și mai eficiente aplicate în studiul mecanismelor imunitare, precum și evoluția geneticei, a biologiei în general, impun această reconsiderare.

De la echivalarea vag delimitată a stării de imunitate cu starea refractară față de bolile infecțioase sau pur și simplu de apărare față de agenții vii nocivi exogeni, sfera noțiunii s-a restrîns prin precizare, dar totodată s-a adîncit. Astfel, imunitatea apare ca o anumită categorie de mecanisme bine delimitate în cadrul fenomenelor care contribuie la menținerea integrității și a constanței individuale a organismelor în permanentul schimb cu mediul înconjurător și intern sau așa cum ne-am putea exprima în termeni informaționali „pentru menținerea planului de organizare“ (22).

În acest sens, imunitatea face parte din acele mecanisme indispensabile, capabile să intercepteze și eventual să anihileze „zgomotele“ (adică mesajele dezorganizatoare ale unor macromolecule informaționale), care pot apărea în releele funcționale ale organismelor (22).

Aceste mecanisme sînt multiple, însă în ceea ce privește fenomenele de apărare se pot încadra în 2 categorii (Gray 15):

a) rezistența nespecifică;
b) imunitatea specifică dobîndită.

Factorii care intervin în aceste fenomene sînt și ei fie de natură celulară, fie de natură umorală.

În sensul vechi al noțiunii, sub numele de imunitate erau implicate mai ales fenomenele de apărare la infecții, deci aspectul „filacogen“ (28), dar studiul mecanismelor fenomenelor de anafilaxie și alergie, al accidentelor de transfuzie și al rejetului alogrefelor a determinat lărgirea noțiunii, întrucît se bazau pe mecanisme identice, astfel încît Rössle (cit. 28) definește imunitatea la infecție cu termeni adaptați fenomenelor de alergie (de exemplu, ca

anergie). Potrivit concepţiei lui C. Steffen (28), termenul de alergie nu este fidel fenomenului de hipersensibilizare, întrucît nu implică specificitatea. În baza acestor considerente, imunitatea poate fi definită ca o stare caracterizată printr-o capacitate modificată a organismului de a reacţiona, declanşată de introducerea antigenului; această stare implică existenţa şi dezvoltarea imunoglobulinelor şi a sistemelor celulare adaptate specific antigenului introdus, determinînd fenomene imunofilacogene (28).

Hipersensibilitatea (alergia) în concepţia lui Steffen se defineşte ca o stare caracterizată printr-o capacitate modificată a organismului de a reacţiona, declanşată de introducerea antigenului; această stare implică existenţa şi dezvoltarea imunoglobulinelor şi a sistemelor celulare adaptate specific antigenului corespunzător, reacţia cu antigenul inducînd şi declanşînd fenomene imunopatogene.

Ca fenomene imunofilacogene sînt considerate acele reacţii specifice între imunoglobulinele-anticorpi şi celulele specializate, pe de o parte, şi microorganismele infecţioase sau produsele lor, pe de altă parte, avînd drept efect anihilarea sau diminuarea acţiunii patogene a acestora. În grupa fenomenelor imunopatogene se includ atît fenomenele de hipersensibilizare de tip imediat (boala serului, fenomenul Arthus, reacţiile anafilactice etc.), cît şi cele de tip întîrziat (reacţia la tuberculină etc.).

Din aceste definiţii se remarcă existenţa cîtorva termeni comuni ca: antigenul, imunoglobulinele şi stistemele celulare adaptate specific; deoarece aceste noţiuni reprezintă elementele esenţiale ale procesului intim atît al imunităţii, cît şi al hipersensibilizării, ele necesită o descriere sumară.

Antigenul înseamnă orice substanţă a cărei caracteristică principală este proprietatea de a provoca, după ce a fost introdusă în organismele animale, reacţii imunitare din partea acestora, traduse prin apariţia de imunoglobuline adaptate specific, adică de anticorpi, şi de a reacţiona specific cu ele.

Fără a intra în detalii trebuie să amintim că numai o parte a substanţelor au capacitatea ca o dată introduse în organismele animale să determine prin ele înşile formarea de anticorpi. O altă parte însă, fiind introduse într-un complex de substanţe, devin antigenice şi determină formarea de anticorpi; aceste substanţe vor reacţiona chiar şi atunci cînd sînt puse izolat în contact cu anticorpii, determinînd specificitatea reacţiei. Atare substanţe au fost numite haptene (jumătăţi de antigene), spre deosebire de primele care sînt antigene complete.

Condiţiile ca o substanţă să fie antigenică sînt: eterogenitatea faţă de organismul animalului în care a fost introdusă, un anumit grad de complexitate şi de mărime moleculară, natura organică şi existenţa unor anumiţi componenţi activi. Cele mai bune antigene sînt proteinele, excepţie făcînd gelatina, prolaminele, protaminele, histonele, hemoglobina etc., care deşi antigenice provoacă o slabă formare de anticorpi şi numai în prezenţa unui adjuvant sau după adăugarea unui component activ (substanţă aromatică).

Glucidele şi lipidele au mai ales caracterul de haptene însă pot fi şi bune antigene. Antigenitatea lor depinde mult şi de specia animalului la care se injectează. Astfel, polizaharidele din capsula pneumococului sînt antigenice pentru om şi şoarece, nu sînt însă pentru iepure, la care se comportă ca haptene.

O serie de antigene pot să reacţioneze cu anticorpi obţinuţi la animale cu antigene de natură străină, de exemplu proteine de la o specie de animal cu proteine similare provenite de la altă specie de animal. În acest caz se vorbeşte de un antigen heterofil, această calitate fiind însă legată şi ea de asemănări pronunţate în structura chimică a celor două antigene.

În anumite cazuri, antigenii pot determina inducerea unei stări de nereactivitate faţă de antigeni corespunzători la organismele animale cărora li se introduc. Această calitate se defineşte în funcţie de condiţiile în care se administrează antigenul (de exemplu, proteine solubile care au fost perfect debarasate prin ultracentrifugări îndelungate de agregatele mari din suspensie sau antigene administrate la animale nou-născute sau iradiate). Aceste antigene se numesc tolerogene, deoarece induc toleranţa la animale (28).

De asemenea se pot întîlni situaţii în care substanţe slab antigenice administrate împreună sau concomitent cu un amestec greu resorbabil pot deveni antigene bune. Amestecul folosit pentru întărirea antigenităţii îl numim adjuvant. Adjuvanţii au constituit un progres important atît în cercetările imunologice, cît şi în practica vaccinărilor şi a tehnicii preparării serurilor terapeutice.

Folosirea antigenelor sintetice sau artificiale, care se obţin prin legarea unor determinanţi de o proteină sau o polipeptidă, a permis realizarea unor date foarte preţioase asupra calităţii de antigen şi a reacţiilor între antigeni şi anticorpi (16).

În anumite cazuri, cînd substanţele proprii ale organismului se combină cu determinanţi străini sau se alterează, ele se comportă ca nişte antigene străine şi provoacă formarea de anticorpi; aceste antigene se numesc autoantigene şi în aceste cazuri se pierde calitatea de autorecunoaştere a sistemelor formatoare de anticorpi. Această calitate are o mare importanţă în transplantări, deoarece determină rejetul organelor şi ţesuturilor transplantate provenite de la indivizi din aceeaşi specie dacă nu există o identitate genetică care să asigure histocompatibilitatea.

Pentru a rezuma, antigenele se pot clasifica astfel:
— antigene bacteriene, virusale şi micotice;
— toxine şi anatoxine (toxoide);
— antigene parazitare;
— antigene heterofile;
— antigene tisulare, antigene de histocompatibilitate şi antigene eritrocitare, leucocitare şi trombocitare.

Antigenele de histocompatibilitate la rîndul lor se pot împărţi în:

— xenogene, provenite de la o specie străină aceleia căreia i s-a introdus;

— alogene, provenite de la indivizi de aceeaşi specie, însă fără relaţii genetice;

— izogene, provenite de la indivizi cu identitate genetică (gemeni homozigoţi, indivizi din aceeaşi linie consanguină — *inbred*);

— autoantigene, substanţe provenind din organismul propriu al generatorului de anticorpi;

— antigene tumorale;

— tolerogene, antigene care induc toleranță față de antigenul sau complexele antigenice corespunzătoare;

— hormoni ca antigene și enzime ca antigene.

Imunoglobulinele anticorpi sînt proteine plasmatice imprimate specific, care apar în organismul vertebratelor ca răspuns la introducerea antigenului, cu care reacționează specific.

Imunoglobulinele sînt constituenți constanți ai plasmei la majoritatea vertebratelor, cu o structură complexă, care migrează lent la electroforeză la pH 8,2, localizîndu-se în zona γ. Prin imunoelectroforeză (Grabar și Williams) se împart între β_2M, β_2A și γ-globuline. Numele de imunoglobuline a fost atribuit de către Heremans (cit. 14). Așa cum se constată de la început, au fost determinate 3 tipuri de globuline care în nomenclatura internațională adoptată de O.M.S. sînt desenate cu prescurtarea Ig G, Ig A, Ig M, cărora ulterior li s-au adăugat altele și anume Ig D (Rowe și Fahey, 1965), Ig E (Ishizaka, 1966) și Ig ND (Johannson și Bennich, 1967), ultimele două fiind mai puțin caracterizate la data actuală.

Caracteristicile mai importante ale primelor 4 tipuri de imunoglobuline sînt trecute în tabelul VI, 1.

Constituția chimică a imunoglobulinelor arată că sînt glicoproteine cu un conținut de glucide variabil după tip [de la 2,9% la Ig G (care dă reacția Kunkel pozitivă cu săruri de zinc) la 7,5% la Ig A și pînă la 11,8% la Ig M (care precipită în apă distilată — testul SIA)].

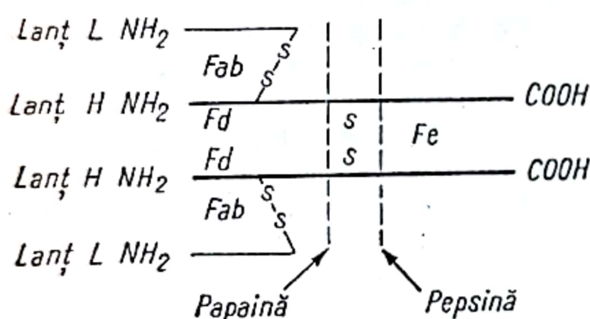


Fig. VI, 1

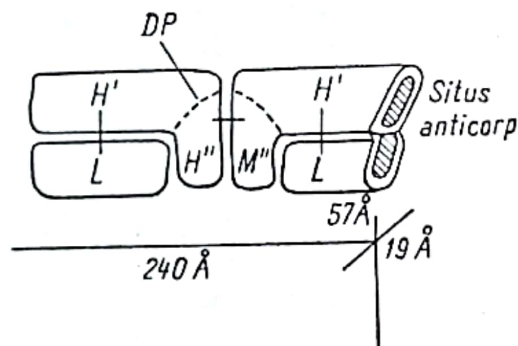


Fig. VI, 2

Fig. VI, 1. Schema structurală de bază a imunoglobulinelor [*după R. R. Porter*, 1962 (*din A. Gaj dos* —11—)].

Fig. VI, 2. Schema structurală de bază a imunoglobulinelor [*după Edelmann și Galy* (1964)]. Semnificația prescurtărilor: *DP*- digestie papainică; *H'*- lanț H fragment Fd: *H''*- lanț H fragment *Lc; L*- lanț L. [*după M. Goudemond și colab.* (14)]

În continuare vom prezenta cîteva din elementele structurale ale imunoglobulinelor necesare pentru a înțelege mecanismele sintezei lor. Structura tuturor imunoglobulinelor se încadrează într-o schemă generală, care a fost stabilită de Porter în 1962 și apoi completată de el și colaboratorii săi și de Edelmann și colab. (fig. VI, 1; fig VI, 2).

În baza acestor scheme, imunoglobulinele sînt constituite din grupe de 4 lanțuri polipeptidice:

— Cîte două lanțuri polipeptidice grele, notate H (heavy) sau A, cu greutatea moleculară de 55 000—70 000, caracteristice fiecărui tip, avînd notația

TABELUL VI, 1

Caracteristicile imunoglobulinelor

Caracteristici	Tipul imunoglobulinei			
Nomenclatura oficială a O.M.S.	Ig G	Ig A	Ig M	Ig D
Clasa globulinelor de mielom	γG	γA	γM	γD
Sinonime	γ_1, γ_2; 75γ; γ55; 6,65γ	$\beta_2 A$; $\gamma_1 A$ 75–135γ_1	$\beta_2 M$; $\gamma_1 M$ 18–195 γ	γ/I
Greutatea moleculară	150 000	165 000	900 000	?
Constanta de sedimentare	6,6 S	7 S (9, 11, 13)	18 S	7 S
Formula moleculară	$K_2\gamma_2$ sau $\lambda_2\gamma_2$	$K_2\alpha_2$ sau $\lambda_2\alpha_2$	$(K_2\mu_2)_5$ sau $(\lambda_2\mu_2)_5$	$K_2\delta_2$ sau $\lambda_2\delta_2$
Lanţ H gr. mol. tip	55 000 γ	65 000 α	70 000 μ	δ
Lanţ L gr. mol. tip	22 500 K sau λ	24 500 K sau λ	22 500 K sau λ	22 500 K sau λ
Antigen Gm(heavy) Antigen In V(light)	+ +	0 +	0 +	0 +
Sinteza mg/kilocorp/zi	28	30	6,6	?
Catabolism %/zi	3	12	14	?
Timp de înjumătăţire	23 de zile	6 zile	5 zile	?
Cantitate normală în plasmă (g %)	1,25	0,15 –0,4	0,15	?
Reacţii cu factorii reumatici	+	0	0	?
Fixarea complementului	+	0	+	?
Activitate anticorp	+	+	+	?
Neutralizarea toxinelor	+	(+)	0	?

corespunzătoare şi anume γ pentru Ig G, α pentru Ig A, μ pentru Ig M, Δ pentru Ig D, ε pentru Ig E. Pornind de la studiul serurilor provenite de la mielomatoşi s-au putut descrie ulterior variante ale unora dintre tipuri; astfel, de exemplu, la lanţurile γ s-au descris imunologic 4 tipuri normale: γ 2 A sau NE, γ 2 b sau We, γ 2 c sau Vi şi γ 2 d sau Ge.

— Cîte 2 lanţuri polipeptidice uşoare notate L (*light*) sau B, cu greutatea moleculară 22 500. Acestea sînt de 2 tipuri notate cu K şi γ. Acestea intră în structura tuturor imunoglobulinelor. Ele constituie proteinele ce se elimină în urină la anumite forme de mielomatoze (proteine Bence-Jones).

Lanţurile sînt legate între ele prin punţi disulfidice şi anume, lanţurile L de lanţurile H şi lanţurile H între ele. Papaina provoacă o hidroliză limitată a lanţurilor grele aproape de centru, fragmentînd molecula în 3 părţi, plus cîteva oligopeptide. Aceste 3 părţi sînt astfel constituite: cîte un lanţ L legat de jumătatea aminoterminală a lanţului H, care în acest caz este numit Fd, cu greutatea moleculară a ansamblului de 50 000, denumite Fab′ (*antibody fragment*). Fab apare în două exemplare pentru cele două lanţuri L; al doilea exemplar fiind notat Fab″, purtînd fiecare determinanta anticorpului; al treilea fragment reprezentînd cele două jumătăţi carboxi-terminale legate prin puntea disulfidică, avînd greutatea moleculară 50 000 şi care poartă simbolul Fc, deoarece a putut fi obţinut în stare cristalizată. Acest fragment poartă situsul de fixare a complementului, precum şi de fixare tisulară a imunoglobulinei. Prin digestie peptică, lanţurile H sînt atacate dinspre terminaţia carboxilică, oprindu-se înaintea punţii disulfidice. Rezultă o moleculă de anticorpi cu lanţurile L şi Fd, legate între ele, formînd complexul (Fab) 2 şi resturi din Fd terminal (11, 13) (fig. VI, 1 şi fig. VI, 2).

Situsul anticorpului unei molecule de imunoglobulină cu activitate de anticorp este reprezentat printr-o dispoziţie de structură cuaternară care rezultă din unirea terminaţiilor aminice ale celor două cupluri de lanţuri L şi H. Deci o moleculă de anticorpi are cîte 2 situsuri combinative identice, existînd însă posibilitatea ca un anticorp să aibă şi situsuri diferite (aşa-numiţii anticorpi *heteroligating*).

În afară de determinantele specifice de anticorpi, imunoglobulinele posedă şi determinante specifice de antigen, care diferă la indivizii din cadrul aceleiaşi specii. Astfel, la om, s-au desprins factorii Gm (Grubb şi Laurell), care inhibează reacţia de aglutinare determinată de serurile unor bolnavi de poliatrită cronică evolutivă faţă de hematiile O Rh+ sensibilizate de anticorpi anti-D incompleţi. Antigenul Gm este localizat în lanţurile H ale Ig G atît în fracţiunea Fd cît şi în fracţiunea Fc. Pînă în prezent au fost descrişi 21 de factori Gm desemnaţi ca specialităţi alotipice (11).

Ropertz şi colab. au descris la om un nou tip de antigen, desemnat cu notaţia In V localizat în varietatea k a lanţurilor L, la care se cunosc pînă în prezent 3 tipuri. Întrucît la lanţurile L s-a determinat secvenţa aminoacizilor, s-a putut preciza că diferenţa între cele două tipuri mai frecvent întîlnite (In V 2 şi In V 3) constă în prezenţa leucinei pentru In V 2 şi a valinei pentru In V 3.

Aceste caractere antigenice ale imunoglobulinelor se transmit ereditar şi geneticienii le folosesc pentru clasificarea indivizilor şi studii asupra repartiţiei lor în cadrul unor populaţii aparent omogene. Astfel, în timp ce la negrii afri-

cani factorul Gm (şi în special Gm 1) se găseşte în proporţie de 100%, iar Gm 4 lipseşte, la albi, Gm 1 şi Gm 5 se comportă ca alele, ceea ce nu se întîmplă la asiatici.

În ceea ce priveşte filogeneza imunoglobulinelor, datele de pînă acum arată că lipsesc la nevertebrate, sînt foarte slab reprezentate la vertebratele inferioare, poikiloterme, însă sînt abundente în plasmă la păsări şi mamifere. La vertebratele inferioare, atunci cînd se găsesc, imunoglobinele sînt de un singur tip — mai ales Ig M — (ca de exemplu, la cîinele de mare). Este de notat că prin determinări repetate s-a remarcat că şi la mamifere şi păsări, stimulul antigenic determină celulele sintetizante de anticorpi să producă iniţial Ig M şi numai ulterior Ig G şi Ig A în cantitate mai mare (11).

Studiul genetic al biosintezei imunoglobulinelor este foarte complicat atît datorită marilor variabilităţi (clase, subgrupe, alotipii, variaţii idiopatice), cît şi numărului mare de aminoacizi, care se pot schimba între ei, ajungîndu-se la o multitudine de anticorpi susceptibili a fi sintetizaţi (peste 100 000). Informaţia genetică, datorită căreia se ordonează sinteza, este transmisă de ADN unui mARN, care, la rîndul lui, o transmite unui set de poliribozomi. Acest set impune ordinea în care tARN aduce aminoacizii în secvenţe. Poliribozomii care construiesc lanţurile uşoare sînt diferiţi de cei care construiesc lanţurile H, aşa cum a fost constatat la om şi şoarece de către Scharff (cit. 11) pe poliribozomi 270 S şi 190 S. Sinteza se face foarte repede şi anume, în 35—45 de secunde pentru lanţurile L şi 60—75 de secunde pentru lanţurile H. Lanţurile L se alătură apoi lanţurilor H, combinîndu-se pentru a da molecula completă. Sinteza celor două lanţuri este bine echilibrată, deoarece se găsesc în ser foarte puţine lanţuri L şi fragmente Fc de lanţuri H libere. În anumite boli, ca, de exemplu, în mielom, acest echilibru este compromis, ceea ce face să apară lanţuri L libere în proteinele Bence-Jones.

Deci, în celula formatoare de anticorpi, care pentru majoritatea autorilor este sistemul limfoplasmocitar, există un cistron pentru lanţurile H şi unul pentru lanţurile L, cistroni care nu sînt legaţi între ei. Controlul genetic pentru clase, subgrupe şi alotipii este uşor de înţeles. Deocamdată este însă dificil de apreciat dacă pentru fragmentele variabile, cu marele lor număr de aminoacizi, care pot fi schimbaţi, există sau nu cîte o genă specială. În această privinţă sînt mai multe păreri. Pentru Dreyer şi Bennet (cit. 11), genele se găsesc preformate în celulele germinale; Brenner şi Millstein consideră că celulele germinale conţin numai cîte o genă pentru fragmentele variabile, care apoi suferă mutaţii somatice (11). Edelmann, Hilschmann şi Smithies nu admit decît 5—10 sau chiar numai 2 gene pentru aceste fragmente.

Sistemul celular adaptat specific mecanismelor imunitare este constituit, pentru majoritatea autorilor, de către sistemul reticuloendotelial şi în special linia histiolimfoplasmocitară. Recunoaşterea rolului sistemului limfatic în reacţiile imunitare este de dată destul de veche; cu toate acestea încă nu există o unitate perfectă asupra contribuţiei elementelor care participă la acest sistem, la formarea anticorpilor şi în reacţiile de hipersensibilizare.

Părerile celor mai mulţi autori converg spre a acorda rolul primordial în formarea anticorpilor plasmocitului, pentru aceasta existînd mai multe argumente, ca: sporirea numărului de plasmocite în organele hemolimfoide după stimularea antigenică, organizarea structurală a plasmocitului caracteristică

pentru activitate intens proteinogenetică (citoplasma intens bazofilă și pironinofilă, ergastoplasma bogată, dezvoltată echivalent în reticul endoplasmatic de tip R), corelația între concentrația de imunoglobuline și numărul de plasmocite, numărul evident redus de plasmocite la bolnavii cu agamaglobulinemie, precum și plasmocitoza crescută în hipergamaglobulinemii. Studiile prin imunofluorescență, cele imunochimice cu anticorpi marcați cu feritină la microscopul electronic, precum și cecetările făcute pe o singură celulă sintetizantă de anticorpi susțin la rîndul lor această concepție (1, 11, 23 etc.). După părerea majorității autorilor, plasmocitele provin din limfocitele mari.

Introducerea în organismul animal a unei substanțe antigenice, dacă se face pe cale intravenoasă, determină acumularea ei în splină și măduva osoasă, iar dacă se injectează subcutanat sau intramuscular, antigenul apare în ganglionii limfatici.

Un rol important în această fază revine macrofagelor (10), care înglobează prin fagocitoză sau pinocitoză antigenul și cu ajutorul hidrolazelor din lizozomi îl degradează pînă la componentele active antigenice, care posedă grupările determinante specifice. Macrofagele cedează apoi acest material limfocitelor mari din organul limfoid respectiv, însoțite de mARN (10, 23). Astfel, în limfocit începe să se mărească volumul citoplasmei, apar diviziuni celulare și se produce transformarea plasmocitară întîi apărînd limfoblaștii, plasmoblaștii, apoi plasmociții imaturi sau tineri și, în sfîrșit, plasmocitul matur. Se pare că plasmocitul imatur cu rata de sinteză cea mai mare a ARN are și capacitatea de fabricare a anticorpilor cea mai marcată. La plasmocitul matur, cu o sinteză mai mică de ARN, eliminarea anticorpilor are loc prin mezocrinie (10, 19, 23, 28) (fig. VI, 3).

Rolul ARN de a transmite capacitatea de a elabora anticorpi în celulele limfoide a fost evidențiat mai ales de lucrările lui E. P. Cohen și colab. (7), care au reușit să inducă formarea de anticorpi în splina șoarecelui neimunizat cu ajutorul ARN extras din splina șoarecilor imunizați. Se pare că cel puțin într-o anumită fază, ARN este legat de o anumită cantitatea de antigeni, ceea ce a fost demonstrat atît la ARN extras din macrofage, cît și la cel extras din splină.

Problema răspunsului mai amplu la reinjectarea antigenului presupune trei posibilități:

a) persistența antigenului;
b) prezența unor unități autoreplicabile;
c) activarea unui potențial existent.

Faptul că (așa cum o dovedesc experiențele) se menține posibilitatea unui răspuns la antigen după 800 de generații de celule formatoare de anticorpi, face să fie greu de presupus că antigenul ar putea persista în citoplasmă, ci mai degrabă trebuie să se acorde atribuirea acestei „memorii imunologice" unor unități autoreplicabile, care oriunde ar fi ele localizate au un corespondent în ADN ce constituie genomul celular.

Nossal și Mäkele (cit. 28), constatînd că la reinjectarea antigenului 95% din limfocitele mari apar marcate cu timidină tritiată, consideră că acest tip de celulă este purtătoarea memoriei imunologice (*Memory cells*), (fig. VI, 3).

În celulele producătoare de anticorpi în stare de repaus, anticorpii decelabili sînt în cantitate foarte mică. Aceste celule în timpul diviziunii lor la

rata obişnuită dau naştere fie la celule care prin diferenţiere sau moarte se pierd, fie la celule care prin autoreplicare continuă să transmită memoria imunologică. Atunci cînd aceste celule vin în contact cu antigenul cunoscut, se produce o stimulare a proliferării lor: un număr mare se vor diferenţia, iar o parte mai mică va continua să se menţină ca atare pentru a păstra capacitatea de transmitere a memoriei.

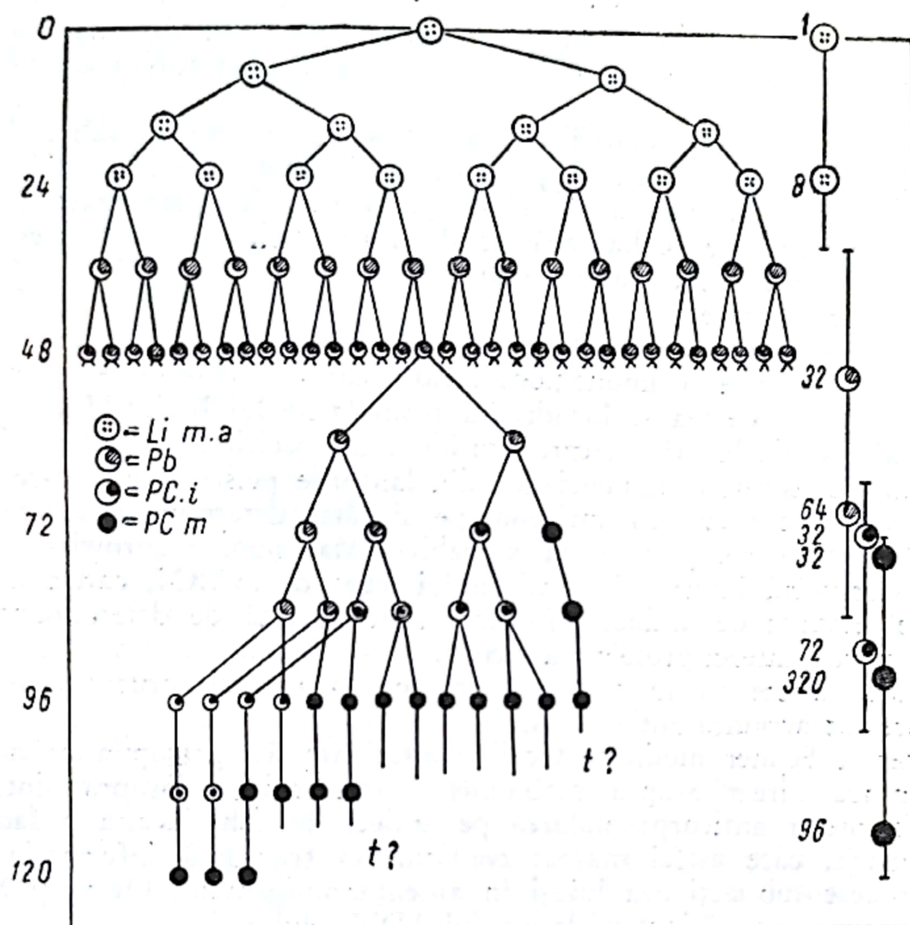


Fig. VI. 3. — Reprezentarea schematică a evoluţiei unui clon generator de anticorpi *(după Mäkelä şi Nossal,* 1962). Cifrele de pe latura stîngă arată orele trecute de la a 2-a injecţie de antigen. Cifrele de pe latura dreaptă arată proliferarea celulară a clonului întreg. Bifurcările arată diviziunea mitotică, liniile drepte dezvoltarea celulelor fără diviziune. *Li. ma* — limfocite mari; *Pb* — plasmoblast; *Pci* — plasmocit imatur; *Pcm* — plasmocit matur [*după C. Steffen* (28)].

Caracteristica celulelor elaboratoare de anticorpi este ciclul rapid al ADN. Limfocitele mici cu ciclul încetinit nu produc anticorpi, în timp ce unii mutageni (ca fitohemaglutinina) sau antigenii determină stimularea sintezei de anticorpi de către limfocite.

Prin diverse procedee experimentale s-a ajuns la concluzia că în elementele care elaborează anticorpi pot să coexiste procesele de sinteză a ADN cu acelea ale anticorpilor. La fel ca şi la alte celule care secretă proteine, în genomul acestora o parte din ADN realizează planul de structură a

celulei, iar altă parte contribuie la sinteza anticorpilor. În baza acestei aserţiuni trebuie acceptată existenţa restricţiilor fenotipice şi genotipice, dovedite în bună măsură de experienţele lui Nossal şi Mäkele (citat 4) pentru restricţia fenotipică, întrucît ei susţin că numai 1,8% din celulele generatoare de anticorpi sînt capabile să producă mai mult de un anticorp, cifră la care ajunge prin tehnica imunocitoaderenţei cu hematii de la 2 specii diferite (mamifere şi păsări) (G. Biozzi şi colab.) (2). Pentru restricţia genotipică, cercetările lui Simmonsen (cit. 4) arată că prin cîteva transferări de celule active la animale receptoare, acestea îşi păstrează capacitatea de a forma anticorpi pentru antigenul iniţial.

În transmiterea informaţiei de la ADN la structurile subcelulare din citoplasmă, interesate în sinteza proteică, s-a arătat anterior rolul mARN.

Pentru inducţia formării de anticorpi la celulele specializate s-au emis o serie de ipoteze care se bazează pe două principii teoretice. Acestea sînt:

— teoriile instructive sau informaţionale;

— teoriile selective.

1. **Teoriile instructive** atribuie acţiunii directe a antigenului formarea unei structuri spaţiale a imunoglobulinelor, care să determine specificitatea anticorpilor. Între acestea se încadrează formulările lui Breinl-Haurowitz, ale lui Alexander şi ale lui Muds, care consideră că specificitatea anticorpilor este determinată de secvenţa aminoacizilor din lanţurile polipeptidice, care au fost dobîndite după contactul cu antigenul pe ai cărui determinanţi anticorpul îşi mulează structura complementară variabilă. Mai nou, Haurowitz (cit. 23) a introdus factorul intervenţiei antigenului legat de mARN, care poate modifica unele secvenţe de aminoacizi complementari faţă de determinanţii antigenici, în cursul sintezei proteinei anticorp.

Pauling susţine că modificarea are loc la nivelul structurii secundare sau terţiare sub acţiunea antigenului.

Burnet şi Fenner modifică teoriile anterioare. Ei presupun că antigenul nu acţionează direct asupra globulinelor anticorpi, ci asupra sintetazelor imunoglobulinelor anticorp; mularea pe antigen în felul acesta o face sistemul enzimatic, care astfel marcat continuă să transmită informaţia globulinelor produse sub acţiunea lui şi în absenţa antigenului. Owen şi Schwert (cit. 4) transpun această ipoteză la nivelul ADN-celular.

Grabar pornind de la constatarea că globulinele au în economia proteinelor plasmatice rolul de transportori, pentru o serie de substanţe cu care se combină în acest scop, consideră la un moment dat anticorpii ca un aspect particular al funcţiei de transport şi de fixare a globulinelor.

2. **Teoriile selective** pornesc de la o postulare mai veche a lui Ehrlich, care a emis ipoteza formării anticorpilor pe baza catenelor laterale receptoare pentru antigene, eliberate sub influenţa acestora. Această ipoteză, deşi necorespunzătoare întru totul realităţii, a fost reactualizată în lumina noilor date de diverşi autori. Astfel, Sahli şi Jerne concep geneza anticorpilor ca o proprietate a celulelor reticuloendoteliale, antigenul jucînd rolul de stimulator pentru acele celule ai căror produşi γ-globulinici îi corespund, determinînd prin aceasta o sintetizare mărită a acestor produşi.

Burnet introduce în explicaţia fenomenului de geneză a anticorpilor conceptul „selecţiei clonale", constatat la populaţii de organisme care se

înmulţesc prin sciziparitate (la bacterii), la care o anumită calitate a mediului face să se dezvolte în mod selectiv un grup din populaţie care este mai pregătit pentru a se adapta acestei calităţi noi. În acest fel, caracterele noii ramuri ajung să înlocuiască pe cele iniţiale, conferind întregii populaţii caracteristicile proprii conforme mediului în care se produce fenomenul. Aplicînd acest concept la populaţia de celule mezenchimale, celule mobile, supuse permanent modificărilor fiziologice, producătoare ale globulinelor plasmatice, Burnet presupune că pentru fiecare globulină corespunde un clon, adică un grup de celule cu o anumită marcare genetică. În acest sens, pentru fiecare determinant antigenic ar corespunde un număr de celule care constituie capete de clon sau celule-mamă pentru un clon. Soarta acestora în timpul existenţei organismului depinde de modul în care au ocazia sau nu să vină în contact cu antigenul corespunzător şi probabil de vîrsta populaţiei în momentul contactului. Astfel, contactul cu antigenul în cursul embriogenezei duce la eliminarea funcţională a capului de clon, fapt care ar explica toleranţa faţă de determinanţii antigenici ai ţesuturilor proprii sau faţă de antigenele străine introduse în organismul embrionilor sau al animalelor nou-născute. În acest mod se dă o explicaţie a distingerii a ceea ce este propriu (*self*) de impropriu (*non-self*) în imunologie.

Pe baza acestui concept, contactul cu antigenul în cursul vieţii individuale va determina proliferarea clonului corespunzător de celule, care imediat după fixarea antigenului complementar se fixează într-o nişă tisulară adecvată (splină, ganglion limfatic etc.), unde proliferează. Burnet atribuie rolul unor asemenea celule cap de clon (imunologic competente sau cum li se mai spune „imunocompetente"), mai ales limfocitului, acesta fiind o celulă circulantă. Acest fenomen nu se petrece însă în orice condiţie, ci depinde de o serie de factori, între care concentraţia antigenului, starea funcţională a celulelor, existenţa locurilor propice de nidare sau de caracterul de durată a stimulării. Rezultatele acţiunii acestor condiţii pot să se manifeste în afară de proliferare prin producerea de anticorpi, distrugerea celulelor eterogene sau producerea unor substanţe farmacologic active.

În felul acesta, geneza anticorpilor, pe baza concepţiei selecţiei clonale, este rezultanta unui proces genetic sau epigenetic. Teoria a suscitat multe discuţii, autorul însuşi a revizuit o parte din tezele ei, dar totuşi pînă în prezent ea oferă multe aspecte valabile.

În primul rînd s-a pus problema că, potrivit acestei teorii, pentru fiecare anticorp trebuie să existe o singură celulă. Nossal (cit. 23), în experienţe efectuate pe celule în cultură unică şi cu ajutorul fenomenului de imobilizare şi citoaderenţă, a demonstrat că numai 1,8% din populaţia celulelor formatoare de anticorpi produc mai mult de un singur anticorp, dar şi în acest caz nu mai mult de 2.

Attardi găseşte însă un procent mai mare de celule producătoare de cîte 2 anticorpi. Însă, chiar şi în acest caz, exceptînd faptul că în timpul izolării s-ar putea contamina celula cu material de la alte celule formatoare de anticorpi, existenţa celulelor heterozigote ar putea explica formarea a 2 anticorpi.

De asemenea, se pune problema care ar trebui să fie limita configuraţiilor determinantelor antigenice posibile. După Talmage, acestea ar fi de 5 000, iar

după Haurowitz de 50 000, cifre care par plauzibile pentru existența unui număr corespunzător de capi de clonă.

Există însă și contraargumente destul de puternice, între care constatările lui Sterzl și Trnka. Aceștia au stabilit că pentru a induce la iepurii nou-născuți sau la embrionii de găină de 18 zile formarea de anticorpi, numărul minim de celule splenice necesare este de 5 000 000; dar un număr de celule variind între 500 000 și 5 000 000 induce formarea de anticorpi la 50% din animale. Tratarea prealabilă cu antigen *in vitro* scade considerabil cifra celulelor necesare în acest scop. Mărirea stocului de celule administrate, în baza concepției clonale, ar trebui în consecință să scadă intervalul la care anticorpii apar decelabili în sîngele receptorilor, fapt care în experiență nu s-a validitat, cu timpul suferind o modificare disproporționat de mică față de diferența cantitativă. Acest fapt rezultă și din calculul estimativ al produsului numărului minim de celule necesare producerii unor cantități decelabile de anticorpi.

Teoria selecției clonale a lui Burnet continuă să rămînă un domeniu fecund de ipoteze și discuții.

În ceea ce privește reglarea genetică a sintezei de anticorpi, aceasta a beneficiat în totalitate de schema mecanismelor genetice ale sintezei proteinelor elaborate de Jacob și Monod.

Pe baza acestei scheme, Parker și Bearn au presupus un sistem de reglare, pe care îl vom reda în prezentarea oferită de I. Moraru și St. Antohi (21) (fig. VI, 4). Conform schemei lui Parker și Bearn, operonul pentru anticorpi este format dintr-o genă operatoare (O_2), gene structurale (SG^{AB}) și o genă reglatoare (RG_2). Activitatea întregului operon este controlată de un operator

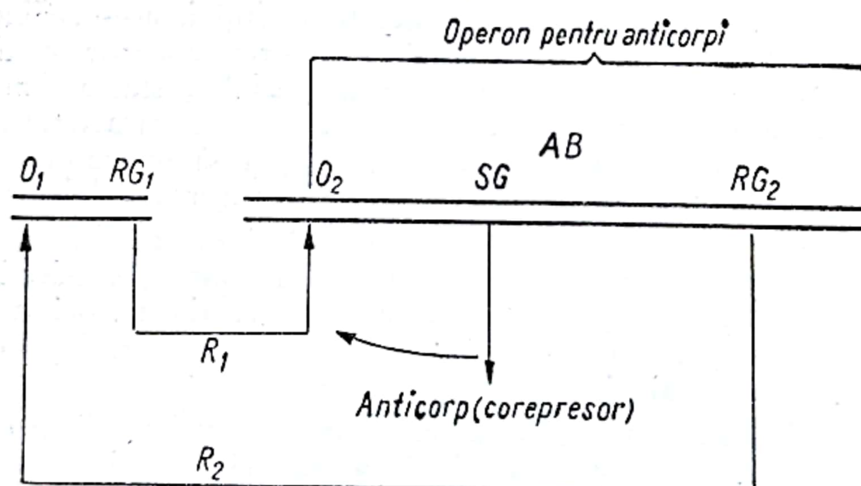


Fig. VI. 4. — Mecanism ipotetic al reglării sintezei de anticorpi [*după Parker și Bearn*, 1963]. Explicații în text. [*după I. Moraru, St. Antohi* (21)].

(O_1) cu o genă reglatoare (RG_1) care determină sinteza unui represor (R_1). Represorul reacționează alosteric cu produsul genelor structurale, anticorpul, care în acest caz este un corepresor. Deci, în repaus, operonul anticorpilor este represat de însăși produsul său. În cazul contactului cu antigenul complementar, anticorpul se fixează pe determinanți, el fiind astfel inactivat. Represorul R_1, nefiind modificat alosteric, nu reacționează cu operonul, iar gena structurală inițiază sinteza de mARN și se produc anticorpi. În același

timp, gena reglatoare RG_2 din cadrul operonului O_2 sintetizează la rîndul ei un represor R_2 care blochează operatorul O_1 și prin aceasta întreg sistemul de reproducere a represorului R_1. Astfel, producerea de anticorpi de către operonul corespunzător va continua și după ce antigenul va fi dispărut din reacție. Această schemă completată cu afirmația lui Nossal, că sistemul de reglare a producerii de anticorpi este corelat și cu acela de proliferare celulară, a cărui mecanism nu este încă perfect elucidat, ar putea să redea explicația diferențierilor celulare.

La aceste ipoteze, lucrarea lui Burtin și Grabar adaugă o sugestie care integrează mult mai pregnant modul complex în care iau naștere moleculele diferitelor tipuri de imunoglobuline, determinînd locii de formare pe cromozomi, de unde este dirijată reproducerea lor. Îndeosebi este important locusul de pe cromozomul X, deoarece explică agammaglobulinemia recesivă legată de sex și variația solidară a Ig G și Ig A, spre deosebire de Ig M între altele.

Se înțelege că aceste ipoteze și scheme nu au ajuns să utilizeze toate aspectele pe care le oferă fenomenele constatate în legătură cu geneza anticorpilor.

În ultimul timp au apărut multe lucrări în legătură cu posibilitățile de transmitere a informației imunologice prin ARN extras din macrofage sau celule splenice.

Astfel E. P. Cohen (7), utilizînd metoda lui Jerne, arată că ARN extras din celulele splenice de la animale imunizate față de hematiile de alte specii determină formarea de anticorpi numai la un anumit număr de celule din populație, reacția nefiind competitivă, căci excesul sau îndepărtarea ARN rămas liber nu face nici să crească și nici să scadă numărul populației de celule formatoare de anticorpi la suspensia de celule provenite de la un animal neimunizat. În schimb, dacă celulele provin de la animale care au primit adjuvant fără antigen, însă neimunizate, conversiunea celulelor formatoare de anticorpi se face în număr mult mai mare.

J. A. Mannik (18) izolează din ganglionii limfatici ai iepurilor grefați un ARN capabil să transfere imunitatea de transplantare la celulele limfoide ale iepurilor neimunizați. Ribonucleaza în cantități mici distruge această proprietate a ARN, a cărei fracțiune biologică activă o găsește în jumătatea superioară a gradientelor de densitate.

L. Michelazzi (20) caută ARN purtător al informației imunitare în plasma și serul animalelor recent imunizate, reușind ca prin ele să inducă la animale neimunizate chiar și de specie diferită anticorpi decelabili. În felul acesta se pune problema posibilității de a realiza o protecție activă prin transfer de mARN purtător de informație imunologică.

E. A. Kabanova și I. N. Kokorin (17) au obținut cu mARN purtător de informație imunologică provenit de la macrofage și amescat cu antigenul complementar inducerea transformărilor blastice la celulele imunogen competente provenite de la animale neimunizate, în condiții de cultură celulară.

Asemenea mecanisme de determinare genetică se întîlnesc și la alte elemente care intervin în apărarea la infecții sau în reacții imunitare. Dintre acestea reținem problema interferonului.

După definiția lui B. Fauconier și C. Chany (8), interferonul este o proteină codificată de către genomul celular a cărei sinteză este reprimată în mod normal. La pătrunderea în celulă a unui virus, acesta inactivează represorul;

în felul acesta se produc interferoni, care pătrunzînd în alte celule determină dereprimarea sintezei unei alte proteine antivirusale, care este codificată de asemenea de către genomul celular. Această proteină acţionează asupra formaţiunii poliribozomilor virusali, împiedicînd expresia oricărei sinteze proteice virusale, fără a implica însă sintezele proteinelor celulei-gazdă.

Interferonii sînt specio-specifici, dar pot să acţioneze eventual încrucişat la specii de animale înrudite. Ei sînt produşi de oricare celulă somatică şi se întîlnesc la toate vertebratele, la nevertebrate şi sub o formă similară (*interferon-like*) chiar la bacterii şi vegetale (faţă de bacteriofagi şi fitovirusuri). Interferonii acţionează faţă de mai multe virusuri, împiedicînd duplicarea lor. Nu se combină direct cu virionul ca anticorpii. Interferonul este produs de celule atît *in vivo*, cît şi în culturi. Celulele în culturi devin rezistente la virus după o incubaţie de 4 ore. Interferonii sînt produşi şi de către celulele embrionare, sînt proteine stabile cu pH 2—9 şi cu greutatea moleculară 25 000—160 000. Interferonii reprezintă probabil unul dintre cele mai vechi mecanisme de apărare a organismelor.

Inductorii de interferon sînt multipli, în primul rînd virusurile şi mai ales ribovirusurile, care acţionează chiar şi inactivate, apoi endotoxinele bacteriene sau culturi de bacterii, fitohemaglutinina, toxoplasma sau substanţe ca cicloheximida, statolonul, helenina etc.

Interpretînd aceste date putem constata că mecanismele imunitare sînt controlate genetic. Acest fapt explică diferenţele individuale constatate în ceea ce priveşte răspîndirea bolilor epidemice, ceea ce a permis în decursul timpurilor să se facă anumite consideraţii mistice. Ele sînt însă justificate prin analiza condiţiilor în care se petrece fenomenul epidemiologic şi între acestea analiza calităţilor genetice ocupă un loc tot mai important. Astfel, în observaţiile făcute în laborator (16), se constată că într-o populaţie exogamă de şoareci, dar în rest foarte omogenă, administrarea unui antigen dă un răspuns în anticorpi cu variaţii pînă la 1 000%. Dacă se încrucişează între ei şoarecii care răspund bine chiar de la a 3-a—4-a generaţie endogamă (F3—F4) descendenţii vor da un răspuns de 4—6 ori superior mediei populaţiei, în timp ce încrucişarea între indivizii cu un răspuns slab de anticorpi dau descendenţi foarte slab producători de anticorpi. Webster (cit. 6), lucrînd cu şoareci albi infectaţi cu *Salmonella typhimurium* a constatat că în urma infecţiei mureau 37,4%. Prin încrucişări selective a obţinut linii de descendenţi care dădeau o mortalitate de 85% la aceeaşi infecţie, precum şi linii la care mortalitatea nu depăşea 15%. Încrucişînd aceste linii între ele constată că rezistenţa crescută la infecţii se transmite ca un caracter dominant. Acelaşi lucru s-a putut constata şi la infectarea şoarecilor cu virusul febrei galbene (19).

Această expunere lacunară nu face decît să sugereze unele mecanisme genetice care contribuie la apariţia unor anumite aspecte ale imunităţii. Rămîn încă numeroase aspecte care au fost abia atinse sau nici măcar n-au fost abordate fie pentru faptul că nu interesează domeniul strict al imunităţii, care este după cum s-a văzut prin excelenţă specifică, fie că încă nu există date destul de clare asupra acestor aspecte.

Scopul expunerii nu a fost însă prezentarea exhaustivă a aspectelor genetice de apărare, ci doar acela de a sugera posibilităţile de determinare genetică a proceselor imunitare.

BIBLIOGRAFIE

1. Ada G. L. — Specialized Cell Function in the Lymphoid and Reticuloendothelial Cell Series, Immunity, Cancer and Chemotherapy, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 18—50.
2. Biozzi G., Stiffel G., Mouton D. — A Study of Antibody-Containing Cells in the Course of Immunization, Immunity, Cancer and Chemotherapy, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 106.
3. Bona C., Vranialici D. — *Microbiologia* (*Buc.*), 1967, 12, 487.
4. Bona C., Dumitrescu M. S., Sulică A. — Imunogenetica, Genetica umană, red. Şt. M. Milcu şi C. Maximilian, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1966.
5. Burtin P., Buffe D. — L'origine cellulaire des immunoglobulines, Immunopathologie, red. P. Grabar şi P. Miescher, Ed. Schwabe, Basel, 1966.
6. Carpenter Ph. L. — Immunology and Serology, ediţia a II-a, Ed. W. B. Saunders, Philadelphia, U.S. A., 1965.
7. Cohen E. P. — IX-th Int. Congress of Microbiology Abstr., Moscova, 1966, p. 553.
8. Fauconier B., Chany C. — *Bull. Inst. Pasteur*, 1968, 66, 431—460.
9. Fichtelius K. E. — *Schweiz. med. Wschr.*, 1961, 91, 1 181.
10. Fischman M., Adler F. L. — Macrophage R.N.A and Antibody Synthesis, Immunity, Cancer and Chemotherapy, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 177.
11. Gajdos A. — *Presse méd.*, 1969, 97, 137—140 şi 329—332.
12. Gheţie V., Micuşan V. — Analiza imunochimică, Ed. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1966.
13. Gorini L. — Ambiguity in the Translation of the Genetic Code into Proteins Induced by Aminoglycoside Antibodies, Immunity, Cancer and Chemotherapy, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 16.
14. Goudemand M., Delmas—Marsalet J. Elements d'immunohématologie, Ed. Flammarion, Paris, 1967.
15. Gray D. F. — Immunologie (traducere), Ed. medicală, Bucureşti, 1966.
16. Halpern B. — *Presse méd.*, 1969, 77, 539—542.
17. Kabanova E. A., Kokorin I. N. — IX-th Int. Congr. of Microbiology Abstr., Moscova, 1966, p. 554.
18. Mannick J. A. — IX-th Int. Congr. of Microbiology Abstr., Moscova, 1966, p. 553.
19. Mesrobeanu I., Berceanu Şt. — Imunologie şi imunopatologie, Ed. medicală, Bucureşti, 1968.
20. Michelazzi L. — IX-th Int. Congr. of Microbiology Abstr., Moscova, 1966, p. 555.
21. Moraru I., Antohi Şt. — Introducere în genetica moleculară, ediţia a II-a, Ed. medicală, Bucureşti, 1966.
22. Moraru I., Sulică A. — Recunoaşterea imunologică şi mecanismele prin care se realizează „Progrese recente în disciplinele imunologice", Ed. medicală, Bucureşti, 1969, p. 93—118.
23. Nestorescu N., Ghyka Gr. — Rolul acizilor nucleici în imunitate, Progrese recente în disciplinele imunologice, Ed. medicală, Bucureşti, 1969, p. 30.
24. Nossal G. J. U., Szenberg A., Ada G. L., Austin C. M. — Single Cell Studies on 195 Antibody Production, Molecular and Cellular Aspects of Development, red. E. Bell, Ed. Harper şi Row, New York, 1965, p. 360.
25. Novikoff A. B. — Lysosomes and Possible roles in the Reticulo Endothelial System, Role du système réticulo-endothélial dans l'immunité antibactériene et antitumorale, red. B. Halpern, Ed. CNRS, Paris, 1963, p. 67.
26. Saragea M., Negru T. — Microbiologia (Buc.), 1965, 10, p. 289.
27. Sercarz E., Coons A. H. — The Exhaustion of Specific Antibody Producing Capacity During a Secondary Response, Mechanism of Immunological Tolerance, red. M. Hasek, Ed. Publ. House of the Czechoslovak, Acad. of Science, Praga, 1962, p. 73.
28. Steffen C. — Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunopathologie, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1968.
29. Sterzl J. — The Effect of Immunosuppresive Drugs at Various Stages of Differentiation of Immunological Competent Cells, Immunity Cancer and Chemoterapie, red. E. Mihich, Ed. Academic Press, New York, 1967, p. 73.

Capitolul al VII-lea

CONTROLUL GENETIC AL RELAŢIILOR ANTIGEN—INFORMAŢIE ANTIGENICĂ—RĂSPUNS IMUNITAR

Antipa Ivanof

Dacă o substanţă, care prezintă caracteristicile ce definesc antigenul, ajunge în contact cu structurile limfoide ale unui animal, declanşează un răspuns imun. Ca o consecinţă este posibil să se producă imunoglobuline anticorpi circulanţi (imunitate umorală) sau o stare de hipersensibilitate de tip tardiv, cu lipsa anticorpilor circulanţi (imunitate cu suport celular)[1]. În sfîrşit, în condiţii definite, stimulul antigenic poate duce la instalarea unei stări speciale, caracterizată prin lipsa unui răspuns imun, toleranţa imunologică. Acelaşi antigen, dacă este administrat într-o formă şi pe o cale adecvată, poate duce la apariţia oricăruia din aceste răspunsuri. În plus, în urma stimulului antigenic, organismul animal cîştigă o nouă calitate, aceea de a prezenta memorie imunologică pentru antigenul respectiv.

În general se face o distincţie netă între imunitatea umorală şi hipersensibilitatea alergică. Se poate aprecia însă că există pentru aceste procese trăsături importante comune şi, în primul rînd, faptul că sînt unele mediate de anticorp, cu un control antigenic asemănător, dacă nu identic. Diferenţele observate ţin mai mult de locul în care se produce reacţia antigen-anticorp, de proprietăţile chimice şi biologice ale antigenului şi anticorpului ce intervin în reacţie şi mai ales de fenomenele secundare locale şi generale, care se desfăşoară ca o consecinţă a reacţiei antigen-anticorp, cu apariţia unor substanţe cu acţiune farmacodinamică diversă (36).

Cu toate acestea, se poate, în lumina datelor actuale, face o distincţie clară în ceea ce priveşte originea liniilor de celule care participă în cele două feluri de răspuns imunitar. Celulele antigen sensibile, care intervin în imunitatea cu suport celular, provin probabil din timus, în timp ce liniile care realizează sinteza imunoglobulinelor umorale ar fi dependente de celelalte organe limfoide primare (bursa Fabricius la păsări, sistemul limfatic legat de intestin — plăcile Peyer, apendice etc. — la mamifere) (32).

---

[1] E poate mai corect acest termen decît cel de imunitate celulară pentru a evita confuzia cu imunitatea celulară a macrofagului în unele procese infecţioase (7).

Desfăşurarea proceselor imunitare este fără îndoială influenţată de toleranţa imunologică, care trebuie privită şi ea ca un proces diversificat, cu o dinamică proprie, influenţa căruia se manifestă începînd de la viteza de eliminare a antigenului din organism, modificarea reacţiilor antigen-anticorp sau a unor procese imunopatologice pînă la abolirea completă a răspunsului imun (6).

Ilustrarea acestor relaţii se poate găsi în procesul infecţios, în sensul că orice infecţie este însoţită de apariţia atît a componentei imunitare umorale, cît şi a celei celulare. În unele, pe primul plan se situează prima componentă (difterie, tetanos etc.), în altele, cealaltă (tuberculoză, bruceloză etc.), pentru ca conexiunile ce se stabilesc în evoluţia infecţiei între acestea să fie influenţate în măsură variabilă de intervenţia unor manifestări de toleranţă imunitară. Această influenţare reciprocă duce de multe ori la conturarea tabloului clinic şi etiopatogenic, cu toate consecinţele ce decurg de aici (6, 7).

Luînd în consideraţie toate acestea se poate ajunge la aprecierea că procesele imunologice au o dinamică proprie complexă, se desfăşoară în timp, în mai multe trepte, interesînd structuri tisulare şi celule specializate, cu o pronunţată diferenţiere. De la calităţile antigenului (la recunoaşterea lui ca *non self* de către organismul la care a pătruns), la prelucrarea lui pentru a deveni informaţie antigenică, se ajunge să fie puse în joc mecanismele de formare a imunglobulinelor anticorpi, concomitent cu alte manifestări paralele ducînd în sfîrşit la conturarea unui răspuns primar şi secundar. Rezultă deci că procesele imunologice trebuie să fie supuse unui control genetic complex, de obicei poligenic, cu unele trăsături particulare, care fără îndoială că îmbogăţesc nu numai patrimoniul imunologiei, dar şi pe cel al geneticei în general.

Deşi genetica procesului imun este suficient de complexă pentru a putea fi schematizată, se va încerca totuşi o ordonare a principalelor cunoştinţe *de control genetic* privind:

— antigenul şi caracteristicile acestuia;
— prelucrarea antigenului şi rolul macrofagului;
— competenţa şi memoria imunologică; imunocitele;
— sinteza imunoglobulinelor şi eterogenitatea acestora.

Toate acestea vor avea ca scop o înţelegere mai bună a mecanismelor producerii anomaliilor ereditare întîlnite în răspunsul imun şi în general a bolilor prin carenţe imunitare.

A. CONTROLUL GENETIC AL PROPRIETĂŢILOR ANTIGENULUI

Antigenul se defineşte prin două atribute:

a) **Imunogenitate sau antigenitate,** înţelegînd prin aceasta proprietatea de a declanşa atunci cînd este introdus într-un organism un răspuns imun, care ţine de structura chimică diferită de structurile proprii ale animalului la care este inoculat (eterogenitate), de o anumită greutate moleculară, de o anumită configuraţie sterică şi de stabilitatea acestei configuraţii (42). În legătură cu aceasta trebuie să fie făcută o remarcă: lucrîndu-se cu antigene sintetice s-a văzut că pot fi substanţe antigenice pentru cobai, declanşînd atît formarea

de anticorpi, cît și fenomene de hipersensibilitate, substanțe cu greutate moleculară mică, cum este α-dinitrofenil-hepta-L-lizina (Gr. mol. 1 080). Scoaterea unui aminoacid din polipeptid (hexa-L-lizina) duce la pierderea acestei proprietăți (37).

b) **Specificitatea,** care se reflectă în natura, în structura poziției (situs) de combinare a anticorpului, și deci în specificitatea reacției antigen-anticorp, care în general este conferită de haptenă sau grupări determinante.

Trebuie făcută distincție între acele arii ale moleculei necesare pentru a fi imunogen și acelea care contribuie la specificitatea antigenului. Din acest punct de vedere se poate face o analogie cu enzimele, care și ele posedă poziții catalitice (centrii activi) și poziții de specificitate pentru substrat.

O mică porțiune din determinantul antigenic are importanță hotărîtoare în definirea specificității sale și a fost etichetată de Heidelberger „grupare imuno-dominantă". Aceasta poate fi reprezentată de puține resturi de aminoacizi sau de oligozaharide. Este suficientă schimbarea unui monozaharid sau chiar modificarea legăturii glicozidice (α—β) din oligozaharid, pentru a modifica specificitatea grupării imunodominante (23).

Antigenul este format deci dintr-o haptenă de specificitate și o componentă pe care se situează această haptenă — purtătorul de haptenă *(carrier)*. Disocierea răspunsului formator de anticorpi de cel de hipersensibilitate, primul ținînd de haptenă, iar al doilea atît de purtător, cît și de haptenă, ca și alte experiențe dovedesc o participare directă și a purtătorului în stimulul antigenic (24, 37). După N. K. Jerne (19), o moleculă poate fi imunogenă numai dacă prezintă cel puțin doi determinanți antigenici, adecvați situați spațial: unul pe purtător, necesar pentru atașarea prin complementaritate pe receptorul de pe membrana unui macrofag, și al doilea — haptena — pentru fixarea pe receptorul de pe celula limfoidă.

Posibilitatea ca răspunsul imun al unui organism animal față de un antigen să fie supus unui control genetic vizînd antigenul a fost presupusă cu mai mulți ani înainte. Se cunoaște astfel din lucrările lui Fjord-Scheibel (1943) și Carlifanti (1948), citați de B. B. Levine (22), că există relații statistice semnificative între capacitatea părinților și cea a descendenților lor de a produce titruri înalte de anticorpi serici față de un anumit antigen. E. R. Arquila și J. Finn (1), studiind răspunsul imun al cobailor *inbred* la insulină bovină, au găsit că o linie (linia 2) de animale poate să producă anticorpi față de un determinant antigenic al insulinei față de care linia 13 dă rezultate negative, dar fără să se poată stabili precis locusul sau locusurile genelor responsabile de acest control.

În cercetările cu antigene cu structură complexă s-a putut stabili doar că se realizează un control prin mai multe gene, situate în locusuri diferite. Descifrarea mai precisă a geneticii antigenului a devenit posibilă o dată cu utilizarea antigenelor sintetice și mai ales a polipeptidelor liniare și ramificate. Fără a putea epuiza bogăția de date acumulate, în cele ce urmează vor fi selecționate cîteva experiențe exemplificatoare.

Copolimerul format din trei aminoacizi — GLA_5 — (acid glutamic, lizină și alanină, aceasta în proporție de numai 5%) s-a dovedit interesant prin faptul că este imunogen pentru 47% din șoarecii convenționali (Swiss), pentru toți indivizii aparținînd unor linii pure (C 3H și BALB/c) și fără nici un răspuns

la alte linii pure — $C_{57}B_1$, CBA — (33). Experiențele de încrucișare au arătat că răspunsul imun al șoarecelui este sub dependență genetică, în sensul că încrucișarea între indivizii care nu reacționează duce la urmași de aceeași categorie, în timp ce încrucișarea între șoarecii cu răspuns imun dă din 26 de urmași 23 care reacționează. Răspunsul șoarecelui la GLA_5 ar părea astfel să fie sub controlul unui singur factor genetic dominant, fără a se cunoaște modul de acțiune genică. Acest model și apoi cele efectuate cu L-poli-L-lizină și L-polipeptide ramificate la șoareci *inbred* (26) au arătat că primele două sisteme prezintă tipurile mendeliene de transmitere a caracterelor ereditare, în timp ce în ultimul, controlul genetic este mult mai complex.

B. B. Levine și colab. (22) au stabilit că răspunsul imun la cobai față de dinitrofenil-poli-L-lizină este controlat de o singură genă autozomală, denumită „gena PLL". Această genă nu controlează înglobarea antigenului în fagocite, degradarea sa intracelulară sau sinteza lanțurilor de imunoglobuline. Se pare că această genă modifică sinteza unei enzime cu specificitate de substrat pentru poli-L-lizină, care catalizează cuplarea haptenei cu ARN.

Pe de altă parte, controlul genetic față de un polipeptid multiramificat s-a constatat a fi realizat de un singur factor genetic principal, legat de locusul H_2 în grupul ligatural IX (31).

Toate acestea, alături de faptul că în experimentele pe linii *inbred* de șoareci formarea anticorpilor față de virusul gripal de diferite tipuri antigenice, legate de hemaglutinină, este controlată genetic, ridică problema caracteristicilor genetice care pot influența imunitatea conferită prin vaccinare (15). Pornind de la aceste date s-ar putea aduce explicații în relațiile dintre genotipul gazdei și cel al microorganismului din care este preparat un vaccin și gradul de protecție conferit organismului imunizat.

B. PRELUCRAREA ANTIGENULUI ȘI POZIȚIA MACROFAGULUI ÎN PROCESELE IMUNE

Ar fi simplist și eronat să se considere că un antigen poate declanșa un proces imunitar acționînd el însăși asupra celulei producătoare de anticorpi. De altfel s-a putut demonstra că celulele care formează anticorpi sînt lipsite de antigen (30). Este bine cunoscut că o substanță străină pătrunsă în organism este captată prin procese de endocitoză de celulele sistemului reticulohistiocitar, la acest nivel realizîndu-se cel puțin o etapă de discriminare a *selfului* și *non-selfului* (Moraru și Ghyka) (28).

Polimorfonuclearele neutrofile, prin bogatul lor bagaj enzimatic lizozomal, realizează în mod obișnuit o degradare avansată a substanței fagocitate, astfel încît aceasta își pierde capacitatea antigenică. Pornind de aici, o serie de lucrări au arătat că macrofagul reprezintă sediul celular al prelucrării antigenului și totodată joacă și funcția de depozitare a acestuia.

Macrofagele reprezintă o populație celulară heterogenă. Macrofagele care intervin în pregătirea stimulului imunogen pot acționa competitiv cu macrofagele care au probabil numai un rol de fagocitoză (19). Captarea antigenului de către macrofage este provocată de un anticorp specific (opsonină), care fie că opsonizează antigenul înainte de a întîlni macrofagul, fie că acest anticorp

este citofilic atașat macrofagului. Intervenția macrofagului necesită molecule anticorp, care în afară de pozițiile lor receptoare (situs de combinare) au în plus alte poziții, care pot să se atașeze de membranele macrofagelor, probabil prin acțiunea unei structuri din regiunea Fc (12). La un animal nestimulat antigenic specific, limfocitele mici secretă probabil cantitatea redusă de opsonine necesară să favorizeze captarea antigenului (38). Opsoninele joacă astfel un rol determinant în soarta antigenului, iar G. J. V. Nossal și colab. (30) consideră că sistemul opsonină-macrofag reprezintă un mecanism important, prin care antigenul este recunoscut ca străin.

Este un obiect de continuă discuție, fără a se putea da un răspuns definitiv, dacă trecerea antigenului prin macrofag este o treaptă esențială, obligatorie, atît pentru antigenul particulat, cît și pentru cel solubil, precum și dacă această treaptă este necesară pentru toate formele de răspuns imun (răspuns primar, secundar, reacție la grefă, hipersensibilizare etc.).

Lucrările lui M. Fishman și colab. (9—12) aduc o altă lumină asupra macrofagului în răspunsul imun. Acești autori au incubat macrofage cu bacteriofag T_2, au extras o fracțiune ARN din macrofage și au adăugat această fracțiune la celule limfoide, provenite de la un animal nestimulat specific antigenic, luîndu-se toate precauțiile pentru a înlătura posibilitatea contaminării acidului ribonucleic cu material antigenic. În acest sistem, celulele limfoide produc cantități mici de anticorpi față de antigenul bacteriofagic. În felul acesta, macrofagul nu realizează numai o prelucrare a antigenului, dar mai mult, el transmite informația de sinteză a anticorpului, prin acest ARN, care funcționează ca un mesager. Aceasta rezultă și mai clar din observația că ARN macrofagic de la un animal donor de un anumit alotip induce limfocitele unui animal recipient de un alotip diferit să producă anticorpi care prezintă markerii alotipici ai donatorului. Această posibilitate readuce în discuție însăși concepția de bază acceptată astăzi în răspunsul imun, teoria selecției clonale a lui Burnet, ca și problema „celulei cu memorie" (38).

Pe un alt plan, cercetări ulterioare centrate asupra macrofagului au arătat că din macrofagele care au captat antigenul se poate extrage o fracțiune ARN-proteină, ARN avînd o greutate moleculară prea mică pentru a putea funcționa ca mesager, iar componenta proteică provenind din antigen (12, 14). Acest complex acid ribonucleic-proteină declanșează un răspuns imunologic intens, dîndu-i-se de aceea denumirea de „superantigen". Mecanismul prin care acest complex induce răspunsul imun nu este complet clarificat.

Trebuie să mai adăugăm că acizii nucleici sau oligonucleotide obținute din aceștia favorizează printr-un stimul nespecific biosinteza anticorpilor (29).

Pornind de la datele care situează macrofagul ca un rezervor de material antigenic, mai multe observații vin în sprijinul unui transfer intercelular direct decît transportarea lui la celulele imunologic competente pe calea circulației generale. În culturi *in vitro* s-au observat aderări între macrofagele și limfocitele provenite de la animalele stimulate antigenic. Au fost semnalate la limfocite prelungiri citoplasmatice (*foot processing*), privite ca organite care realizează legătura cu macrofagul sau clone de limfocite formînd o coroană în jurul unui macrofag. Microscopia electronică a evidențiat punți citoplasmatice directe între macrofage și celule limfoidale (25, 38).

În sfîrşit, s-a susţinut şi posibilitatea ca macrofagul să aibă capacitatea de a forma el însăşi anticorpi, punînd în discuţie dacă în formarea anticorpilor intervine o linie de celule, linia limfocitară, sau acesteia i se adaugă şi macrofagul (27, 38).

Datele adeseori contradictorii, legate de intervenţia macrofagului în procesele imunitare, sînt greu de apreciat datorită faptului că între macrofagul şi limfocitul transformat blastic nu se pot face diferenţieri precise. Ambele tipuri de celule pot fagocita, pot lega anticorpi citofili, pot adera de suprafaţa sticlei, dar celula limfoidă este rezistentă la serul antimacrofagic (16, 38).

Dar, trecînd peste toate acestea, să limităm pentru simplificare rolul macrofagului în procesul imun la captarea, concentrarea şi transportul antigenului prin ataşarea la receptori iniţiali (molecule de anticorpi libere sau ataşate de membrană), pentru ca astfel, determinanţii antigenici liberi să fie prezentaţi limfocitului. În această secvenţă de fenomene pot exista cel puţin patru anomalii care să ducă la abolirea răspunsului imun, şi anume: molecule de antigen deficitare, lipsa macrofagelor sau a macrofagelor capabile să prelucreze antigenul, lipsa receptorilor antigenici iniţiali şi, în sfîrşit, lipsa limfocitelor care să prezinte receptorii antigenici finali. În apariţia acestor defecte se pare că fenomenele ce ţin de „funcţiile membranei“ celulare pot juca un rol esenţial.

C. CONTROLUL GENETIC AL COMPETENŢEI ŞI MEMORIEI IMUNOLOGICE; IMUNOCITELE

Cu toate că există unele controverse, majoritatea observaţiilor converg spre a situa limfocitul mic din circulaţia periferică ca celulă care asigură competenţa şi memoria imunologică, din care derivă imunocitele, celulele formatoare şi/sau secretoare de anticorpi (8, 18, 19, 20).

Strămoşii acestei celule în evoluţia ontogenetică se găsesc într-o celulă „sursă“ din măduva hematogenă, ceea ce ridică problema dacă ea nu reprezintă punctul de diversificare în cele trei direcţii: linia eritrocitară, linia granulocitară şi linia limfoidă. Această celulă sursă pare să nu fie antigenosensibilă şi deci să nu fie o celulă imunocompetentă. Pentru a cîştiga această proprietate, celula trebuie să treacă prin timus, unde, sub influenţa unui factor timic (18), se transformă în celulă limfoidală. În această treaptă, printr-un mecanism genetic încă insuficient precizat, în timus şi în organele cu funcţii similare, ca bursa Fabricius sau echivalentele sale de la mamifere (la om posibil chiar amigdala), are loc o diferenţiere care generează un spectru complet de celule competente, pentru toată gama de antigene cu care organismul va avea posibilitatea să se întîlnească în viaţa sa. În acest fel apar clone sau celule, capete de clone, cu competenţa lor imunologică definitivă.

Toate acestea pot fi susţinute şi de observaţia, că în timus are loc o producţie rapidă de celule (10^9 timocite/zi/g ţesut timic), independent de vîrsta animalului şi de stimularea antigenică. Animalele *germ-free* (crescute în absenţă completă de floră microbiană) au extrem de puţine limfocite în sistemul limfatic periferic, în timp ce producerea de timocite se face în aceeaşi proporţie ca la animalul convenţional (8).

Dacă în organism apare un antigen, care să reacţioneze în mod specific cu celula timică, are loc o proliferare rapidă a structurilor limfatice periferice şi, ca o consecinţă, apariţia unui răspuns imun.

După cei care susţin că diferenţierea clonală se realizează în lipsa stimulului antigenic, printr-o programare strict cromozomială (concepţia liniei germinale), migrarea din timus şi din celelalte organe limfoide primare şi popularea structurilor limfatice periferice se fac după ce celulele timice au venit în contact cu antigenul corespunzător (8, 41).

Într-o altă posibilitate, celula timică populează continuu structurile periferice. În cazul cînd întîlneşte antigenul specific se transformă într-o celulă producătoare de anticorpi — linia plasmocitară. În lipsa stimulului antigenic, avînd o viaţă scurtă, de cîteva ore pînă la cîteva zile, moare. Pentru celelalte structuri limfoide primare (bursă, plăci Peyer etc.), datorită faptului că au o structură mixtă — limfoepitelială şi limforeticulară — întîlnirea cu antigenul şi diferenţierea în celulă imunocompetentă este posibil să se producă chiar la acest nivel (18, 19).

Stimularea antigenică se realizează prin prezenţa pe suprafaţa celulei limfatice a unor macromolecule cu structură identică cu cea a anticorpului pe care celula îl va produce şi specific complementară grupării imunodominante a antigenului, reprezentînd după Jerne (19) receptorii finali. Această moleculă cu structură de anticorp este combinată cu alte macromolecule şi lipide, pentru a realiza funcţia completă de receptor, fiind inclusă structural în membrana celulară. Un model interesant a fost propus de Dreyer şi Gray (8) (fig. VII, 1).

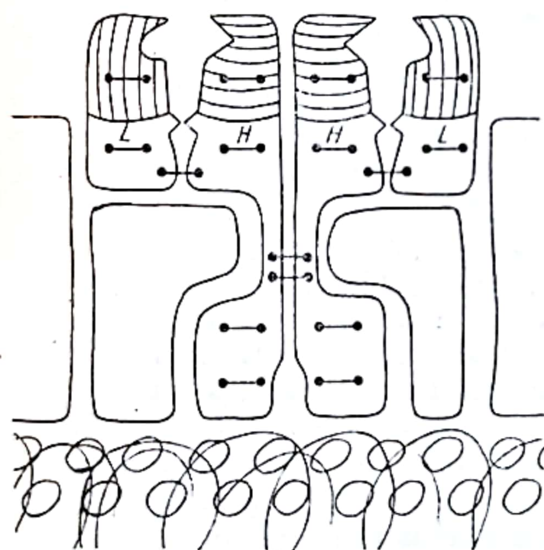


Fig. VII, 1. — Model ipotetic al receptorului final de pe celula limfoidă, care este reprezentat ca o proteină cu mai multe lanţuri, clădită în structura membranei unei celule diferenţiate. Numai porţiunile haşurate, care proemină din membrană, conferă specificitatea (8).

Ca o consecinţă a stimulului antigenic, celula limfoidă, la o nouă întîlnire cu antigenul, suferă o transformare blastică, se divide activ, ducînd la apariţia unor celule mari pironinofile şi apoi la linia plasmocitară producătoare activă de anticorpi (16, 30). Această transformare blastică poate fi realizată *in vitro* şi sub influenţa altor agenţi, cum ar fi fitohemaglutinina, filtratul de cultură de stafilococ, serul antiimunoglobulinic şi antilimfocitar (32), fără însă să se ajungă la secreţia de anticorpi.

Dispariţia stimulului antigenic determină încetarea multiplicării celulelor limfatice corespunzătoare şi, în consecinţă, transformarea posibilă în limfocit mic, cu viaţă lungă (de ani de zile, chiar 10 ani), constituind un lot de celule stimulate antigenic, capabile să răspundă direct şi rapid unui nou stimul antigenic — celula cu *memorie imunologică*.

Un imunocit poate produce 1 000 de molecule anticorpi pe secundă. Dar toate moleculele de imunoglobuline sintetizate de către o celulă sînt uniforme; ele aparţin aceleiaşi clase, subclase, au acelaşi tip de lanţ uşor, sînt de acelaşi alotip şi au aceeaşi specificitate — reacţionează cu o singură grupare antigenică imunodominantă. Aceasta înseamnă că există o corespondenţă perfectă între eterogenitatea imunoglobulinelor şi diversificarea imunocitelor (20).

Există controverse privind posibilitatea ca diferitele clase de imunoglobuline să fie sintetizate de tipuri distincte de celule, în cursul diferenţierii lor. Astfel se consideră că limfocitele tinere sintetizează IgM, iar plasmocitele IgG şi IgA. După alte opinii, celulele blastice ale seriei plasmocitare produc IgM, pe cînd cele mature IgG şi IgA.

Atingerea acestui nivel înalt de diversificare, puţin întîlnit la alte sisteme celulare, a avut o evoluţie filogenetică complexă. Dintr-o genă primordială, este posibil ca prin duplicare şi mutaţie (19) să fi apărut un set de gene care codifică polipeptidele imunoglobulinelor. Capacitatea de a produce anticorpi apare în scara de evoluţie la vertebrate, pentru ca la păsări să se întîlnească aceleaşi funcţii şi aceeaşi eterogenitate de răspuns imun ca la mamifere şi om. Două concepţii, fiecare propunînd modele variate, caută să explice această eterogenitate de răspuns imun:

a) După concepţia liniei germinale, în evoluţia filogenetică au apărut în celulele germinale gene de structură şi reglatoare, care asigură setul de informaţie genetică pentru toate tipurile de anticorpi.

b) În acord cu concepţia liniei somatice, în celulele germinale există un set redus de gene. Diversitatea este generată în linia somatică, în timpul diferenţierii imunocitului prin mecanisme genetice adecvate (17, 19, 20).

Este greu de ales între o explicaţie sau alta din cele date bazei genetice a diversificării imunocitului. Aşa cum arată M. Cohn (5), în lumina liniei germinale, depozitarea memoriei antigenice este organismul, individul, prin celulele sale germinale, în timp ce după concepţia diversificării somatice, „memoria imunologică" este păstrată de celulă (limfocitul cu memorie).

Pe de altă parte, apariţia competenţei şi memoriei imunologice ţine de dezvoltarea ontogenetică, astfel că răspunsul imunitar nu poate să se realizeze în totalitatea sa decît după naştere la majoritatea speciilor de mamifere sau, în general vorbind, ea se realizează în perioada perinatală.

Ţinînd seama de toate cele arătate în controlul genetic al răspunsului imun la nivelul competenţei imunologice şi imunocitelor, se pot produce anomalii, care pot interesa celula-sursă (măduva osoasă), cîştigarea competenţei imunologice (organele limfoidale primare), sinteza anticorpilor de către imunocit. În tabelul VII, 1 se găsesc exemplificări privind unele afecţiuni imunitare genetice, care se explică pe această bază.

D. CONTROLUL GENETIC AL SINTEZEI IMUNOGLOBULINELOR

Imunoglobulinele sînt proteine eterogene, cu o structură definită: lanţuri polipeptidice grele (H) şi uşoare (L), legate prin punţi disulfidice, la care se ataşează o componentă carbohidratică. În raport cu proprietăţile antigenice ale lanţurilor grele se disting 5 clase de imunoglobuline: IgG, IgM, IgA, IgD şi IgE (corespunzător lanţurilor γ, μ, α, δ şi ε). În clasele IgG şi IgA s-au

descris, pe aceeaşi bază, subclase. Lanţurile L la toate aceste imunoglobuline pot fi întîlnite ca două tipuri: K şi lambda. O moleculă de imunoglobulină are un singur tip de lanţ L şi H. În figura VII, 2, după Cebra (1969) (4),

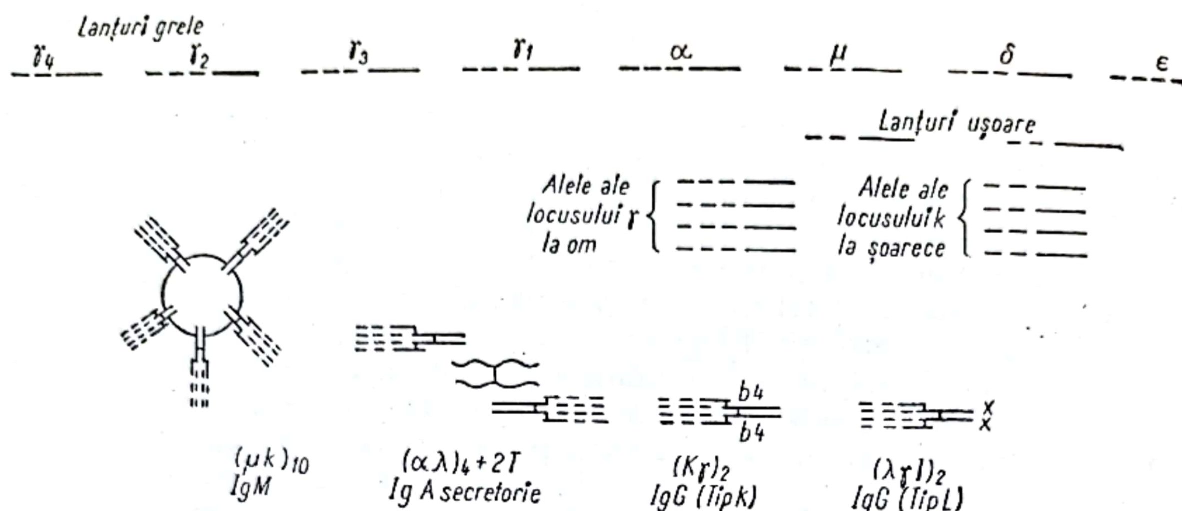
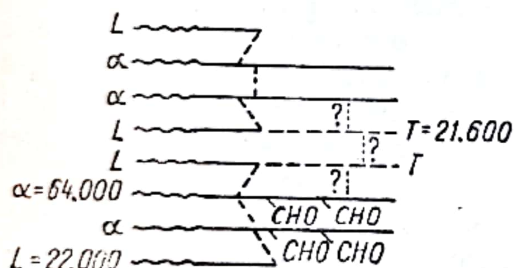


Fig. VII, 2. — Reprezentarea schematică a lanţurilor polipeptidice ale imunoglobulinelor şi modele ale asamblării moleculelor polimorfe de imunoglobuline. Exemplele de markeri alotipici situaţi pe subclasele de lanţuri grele şi pe tipurile de lanţuri uşoare sînt reprezentate pentru imunoglobuline de om şi iepure (*după J. J. Cebra*) (4).

este dată o reprezentare grafică schematizată a acestor cunoştinţe. În plus, la om, şoarece şi iepure, cel puţin, s-au descris şi alotipurile date de gene alele atît pentru lanţurile H, cît şi pentru lanţurile L.



Imunoglobulinele asecretorii au în afară de aceste lanţuri, un alt polipeptid, aşa-numita „piesă de transport" (T), cu o situare particulară în molecula de imunoglobulină (fig. VII, 3).

În general, imunoglobulinele au funcţie de anticorp, excepţie făcînd unele imunoglobuline patologice, cum sînt proteinele mielomatoase, la care posibilitatea de a reacţiona cu antigenul este doar postulată. Imunoglobulinele anticorp sînt înzestrate cu capacitatea de a intra în reacţie specifică cu o grupare imunodominantă corespunzătoare de pe molecula de anticorp după modelul broască-cheie, imaginat pentru relaţiile enzimă-substrat. Fiecare moleculă de anticorp aparţine unei clase, subclase, tip, alotip şi idiotip la care se adaugă specificitatea pentru antigen. Toate acestea ne arată că într-un organism există o eterogenitate extrem de mare de imunoglobuline, care poate fi estimată la cifre care depăşesc 1 000 000 de tipuri de molecule.

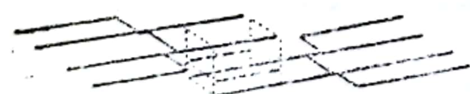


Fig. VII, 3. — Un model propus de *J. J. Cebra* (4) pentru IgA secretorie. CHO- reprezintă carbohidratul. Liniile întrerupte, punctiforme, reprezintă legăturile disulfidice dintre lanţuri, iar liniile întrerupte mai mari lanţul piesei de transport (T).

Această eterogenitate s-a văzut, în urma cercetărilor efectuate în ultimul timp, că este în esență în relație cu secvența de aminoacizi din care este constituit fiecare tip de lanțuri polipeptidice. A rezultat că polipeptidul lanțurilor L este constituit din două părți aproximativ egale: o jumătate cu secvență constantă de aminoacizi (C), caracteristică de tip (K sau lambda) și cealaltă cu o secvență de aminoacizi variabilă (V), care se modifică de la o proteină la alta, chiar și în cazul proteinelor Bence-Jones. Lanțurile grele sînt și ele constituite din două părți — constantă și variabilă — dar regiunea variabilă reprezintă în acest caz probabil mai puțin de un sfert din lungimea polipeptidului (21, 34, 35, 39).

În regiunea C pot să fie prezente diferențe considerate ca minore în secvența de aminoacizi în raport cu clasa, tipul și alotipul moleculei. Astfel, în lanțul ușor k uman, înlocuirea leucinei și valinei duce la o modificare antigenică, caracteristică de alotip (32).

Regiunile variabile ale lanțurilor L și H sînt cele care conferă o conformație diferită a poziției de recombinare a anticorpului, specifică antigenului, complementară grupării imunodominante a acestuia.

Se poate ajunge la concluzia că secvența de aminoacizi din lanțurile polipeptidice este cea care determină conformația pozițiilor de combinare cu antigenul și totodată și determinanții antigenici proprii ai imunoglobulinei.

Din datele mai multor cercetări reiese că poziția de recombinare a anticorpului se găsește pe extremitatea NH_2 terminală (porțiunea variabilă) a lanțurilor polipeptidice L și H. Se pare că specificitatea imunologică este localizată pe lanțul H, dar pentru manifestarea completă și deplină a funcției de recombinare sînt necesare și lanțurile L, care pot participa la alcătuirea situsului de recombinare fie direct, fie mai probabil prin menținerea unei anumite configurații pe lanțul H. În felul acesta, lanțul L ar avea rolul unui reglator de conformație. Poziția de recombinare de pe lanțul H poate fi constituită din 10 resturi de aminoacizi, asamblarea lor determinînd specificitatea de anticorp. Acești 10 aminoacizi oferă posibilitatea unei variații genetice de 20^{10}, ajungîndată este specializată (5, 20, 40).

În acord cu o categorie de ipoteze, orice set haptoid de cromozomi are în constituția sa un număr mare de gene, care acoperă codificarea tuturor imuno-anticorpi trebuie să existe secvențe corespunzătoare de nucleotide în ADN imunocitului. De aici rezultă că în biosinteza imunoglobulinelor trebuie să intervină gene structurale care să codifice lanțurile ușoare și gene răspunzătoare pentru lanțurile H. La acestea se adaugă genele care realizează componenta carbohidratică. Aceasta înseamnă că imunocitele trebuie să posede un mare număr de gene, care să codifice marea varietate de imunoglobuline pe care le poate sintetiza un organism. Se pune astfel problema dacă fiecare celulă plasmatică conține toate genele ce asigură sinteza eterogenității de molecule anticorpi sau numai un set de gene limitate la imunoglobulina pentru care o celulă dată este specializată (5, 20, 40).

În acord cu o categorie de ipoteze, orice set haploid de cromozomi are în constituția sa un număr mare de gene, care acoperă codificarea tuturor imunoglobulinelor. În acest caz, fiecare celulă plasmatică este supusă unei restricții

TABELUL VII, 1

Clasificarea bolilor prin carență imunitară

Sindrom	Caracteristici histopatologice			Nr. de limfocite circulante	Deficiențe imuno-globulinice	Anomalii imunoglobulinice		Mecanism genetic	Observații
	Timus	Plasmocite	Diverse			Răspuns umoral	Răspuns cu suport celular		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
gammaglo-bulinemie infantilă cu transmisie recesivă legată de sex[1]	Normal	Absent		Normal	Insuficiență gravă de toate clasele	Absența sau insuficiența gravă a răspunsurilor la toți antigenii	Normal	Legat de cromozomul X	Infecții recurente cu germeni patogeni extracelulari
Insuficiență selectivă de Ig, IgA	Normal	Absența plasmocitelor producătoare de IgA		Normal	Absența IgA seric și IgA de secreție. Alte concentrații de Ig obișnuit normale	Normal, afară de anticorpii IgA	Normal	Necunoscut; unele ar fi autozomale, cu transmisie recesivă	Bronșite, sinuzite, enteropatii cu exsudație. Unii din subiecți rămîn sănătoși
Ig, M, IgG Ig, D, Ig	Încă necunoscute								
Hipogammaglobulinemie tranzitorie a copilului	?	Insuficiente		Normal	Scăderea IgG	De obicei insuficient sau absent	Normal	Boli familiale?	Pot prezenta mai tîrziu concentrații slabe de IgG sau concentrații subnormale

[1] *Boala Bruton.*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Deficiență primitivă de imunoglobuline nelegate de sex; apariția și expresia variabilă (aberații primitive de imunoglobuline)[2]		De obicei insuficiente, dar variabile	Hiperplazie reticulară, hiperplazie tonsilară, rar hiperplazie gigantofoliculară a ganglionilor limfatici și a splinei	De obicei normal	Scăderea Ig și anomalii totdeauna prezente, dar afectate de clasă, gravitatea și natura modificării variabile	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (constante)	Răspunsuri insuficiente la unele antigene (variabile)	Transmisie autosomală recesivă posibilă în unele cazuri Posibil multifactorial	Posibil un grup complex din care s-ar putea separa forme particulare, definite prin etiologia și caracterele lor genetice
Timom cu agammaglobulinemie[3] (Good și Zak, 1956; Jeunet și Good 1968)	Hipertrofie timică de tip celular epitelial fuziform al stromei	Insuficiente sau absente		Insuficient, scăderea progresivă, adesea pînă la concentrații extrem de joase	Scăderea netă a tuturor claselor	Răspuns insuficient la toate antigenele (constant)	Răspunsuri insuficiente la toate antigenele (constante)	Factor genetic?	Absența constantă sau diminuarea extremă a eozinofilelor în sînge și măduvă. Uneori aplazie eritroblastică asociată
Carență imunitară cu trombopenie și eczemă[4]	Normal	Prezență normală	Insuficiență progresivă a limfocitelor regiunilor paracorticale dependente de timus	Insuficient și scădere progresivă	Totdeauna o insuficiență de Ig dar clasele afectate și natura modificării variabile (scăderea IgM și creșterea IgA):	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (absența izohemaglutininelor și absența răspunsurilor la antigene de membrană glucidice)	Răspunsuri slabe numai la unele antigene (variabile)	Transmisie recesivă legată de cromozomi X	Tulburări asociate: eczemă și trombocitopenie de origine centrală

[2] *Acest grup cuprinde insuficiențele primare „cîștigate", disgamaglobulinemiile și formele „congenitale" nelegate de sex, cu nomenclaturile precedente.*
[3] *Sindromul Good.*
[4] *Sindromul Wiskott-Aldrich.*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ataxie-telangiectazie[5]	Tip embrionar fără organizare în zonele corticale și medulare. Fără corpusculi Hassall	Variabile	Diminuarea limfocitelor în zona dependentă de timus	Scădere ușoară	Normal insuficiență de Ig, dar, clasele afectate și natura modificărilor variabile. Deficiență frecventă de IgA (variabilă)	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (variabile)	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (constante)	Autozomal, transmisie recesivă	Tulburări asociate: ataxie cerebeloasă, progresivă; disgenezie ovariană; telangiectazie în toate țesuturile, cu apariție uneori tardivă
Carență imunitară ereditară cu limfopenie	Hipoplazie timică Scăderea importantă a celulelor limfoide și a corpusculilor Hassall.	Variabile	Scăderea considerabilă a limfocitelor tisulare dar focare limfocitare în splină și în ganglionii limfatici	Slab dar variabil	Insuficiență de Ig și prezența constantă a unei anomalii dar clasa și natura modificării variabile	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (constante)	Răspunsuri insuficiente numai la unele antigene (constante)	Transmisie recesivă legată de cromozomul X sau autozomală	Moarte frecventă prin infecție fungică sau virală în prima copilărie
Agammaglobulinemie alimfocitară autozomală, cu transmisie recesivă[6]	Timus hipoplazic adesea necoborît; absența celulelor limfoide și a corpusculilor Hassall	Absente	Absența limfocitelor în țesuturi	Foarte mic	Insuficiența tuturor claselor	Absența sau insuficiența răspunsului la toate antigenele (constantă)	Răspunsuri slabe la toate antigenele (constante)	Autozomal, cu transmisie recesivă	Subiecții atinși nu supraviețuiesc după prima copilărie

[5] *Sindromul Louis Barr.*
[6] *Limfocitoftizie esențială Glazmann și Riniker (agammaglobulinemie de tip* Suisse).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Limfopenie cu transmisie autozomală recesivă cu imunoglobuline și plasmocite normale[7]	Hipoplazie timică absența celulelor limfoide și a corpusculilor Hassall	Prezență normală	Insuficiență marcată de limfocitele tisulare	Insuficient	Prezența normală a tuturor Ig	Prezența anticorpilor, dar răspunsuri încă insuficient studiate	Absența sau scăderea răspunsurilor la toate antigenele (constante)	Transmisie autozomală recesivă	Poate fi considerat ca o entitate dar constituie probabil o formă cu himerismul sindromului precedent
Aplazie timică[8]	Fără evoluția de epiteliu la fantele brahiale 3 și 4 Lipsa timusului	Prezență normală	Absența paratiroidelor. Lipsa limfocitelor în zone paracorticale dependente de timus. Prezența centrilor germinativi	Puține dar variabile. Uneori în limite normale	Prezența normală a tuturor Ig	De precizat, dar aparent multe răspunsuri insuficiente	Absența răspunsurilor la toate antigenele (constant)	Nimic nu indică un mecanism genetic	De obicei recunoscut în cursul perioadei neonatale și denumit tetania nou-născutului

[7] *Sindromul Nézélof.*
[8] *Sindromul Di George.*

Tabel reprodus după raportul grupului de experți O.M.S. (31).

(întîmplătoare?), pentru a se ajunge la producerea unui singur tip de anticorp (teoriile liniei germinale).

Celălalt grup de ipoteze (teoriile liniei somatice), pornește de la presupunerea că în celulele germinale există numai una sau puține gene pentru lanțurile ușoare și grele. În dezvoltarea somatică, în timpul diviziunilor repetate, aceste gene sînt întîmplător modificate, pentru a produce o mare varietate de gene anticorp, fiecare din aceste gene fiind prezentă numai într-un mic număr din celulele precursoare ale imunocitelor.

Există o mare varietate de căi, prin care un număr mic de gene duce la apariția unui foarte mare număr de gene anticorp. O astfel de cale presupune că genele pentru lanțurile L și H sînt hipermutabile. Este greu de imaginat acest model datorită faptului că mutația trebuie să se limiteze la o jumătate din fiecare tip de lanț.

O altă cale care poate genera un mare număr de gene diferite este cea care asigură fiecărei celule genele distincte lanțurilor L și H ale unui anticorp dat. Fiecare din aceste gene are într-o jumătate (terminația COO^-) nucleotide identice, iar în cealaltă jumătate (extremitatea NH_2) secvență diferită de nucleotide. *Crossing-over*-ul între aceste gene înrudite poate produce apoi noi secvențe nucleotidice.

Este greu în prezent de opinat pentru unul din multele modele (5, 8, 17, 19, 21) propuse de susținătorii liniei germinale sau a celei somatice.

În orice caz, indiferent de căile, de mecanismele intime prin care se ajunge la diversificarea celulară, corespunzătoare eterogenității imunoglobulinelor, este clar că lanțurile L și lanțurile H sînt codificate de gene (cistroni) de structură distinctă. Rămîne însă de precizat dacă polipeptidele L și/sau H sînt codificate de o singură genă (cistroni) atît pentru porțiunea constantă, cît și pentru cea variabilă sau de cistroni diferiți — c și v — (5, 21). Faptul important îl constituie însă, independent de una sau alta din cele două posibilități, că ARN mesager este reprezentat pentru fiecare polipeptid dintr-o singură moleculă, iar polipeptidul se formează ca o unitate pe un singur polizom.

A rezultat, dintr-un mare număr de observații, că lanțurile L sintetizate pe polizomul corespunzător, sînt eliberate în fondul metabolic celular. Un lanț L liber se atașează de un lanț H prezent pe polizomul greu, declanșîndu-se astfel eliberarea unei jumătăți de globulină, care se autoasamblează apoi cu o altă jumătate, formînd scheletul imunoglobulinei. Aceste molecule de polipeptide rămîn în compartimentul celular microzomal, urmînd să aibă loc, în mai multe trepte, atașarea carbohidratului. Sînt astfel necesare mai mult de 8—20 minute pentru ca molecula de anticorp completă să fie secretată (19).

Dacă aceasta este linia generală de sinteză a imunoglobulinelor, trebuie menționat că în cazul imunoglobulinei IgA secretorie, piesa T este sintetizată într-o celulă separată, cu o situare anatomică distinctă de celula care formează restul moleculei (4).

Reiese astfel că în controlul genetic al anticorpogenezei pot să apară anomalii care interesează în primul rînd genele de structură. Fără îndoială că o consecință mai importantă, mai specifică o au defectele care interesează genele de structură care codifică sinteza polipeptidelor, în raport cu cele care inter-

vin în componenta carbohidratică. Asemenea defecte pot apoi să intereseze genele reglatoare care controlează genele de structură.

Multe din bolile care au la bază o carenţă imunitară, pot să prezinte puncte de declanşare, legate de diferitele relaţii din controlul genetic al răspunsului imunitar, schiţate anterior.

Un grup de experţi O.M.S. (31), pornind de la cunoştinţele existente în acest domeniu, au propus o clasificare a bolilor de carenţă imunologică, semnalînd defectele genetice definite şi punînd în lumină pentru fiecare entitate următoarele: baza genetică, constatările histopatologice, aspectele cantitative ale deficitului (celular, imunoglobulinic sau funcţional) şi principalele perturbări caracteristice fiecărui sindrom.

Au fost luaţi în consideraţie în această clasificare (*tabelul VII, 1*) o serie de factori, printre care cei mai importanţi sînt formula imunologică, prezenţa sau absenţa plasmocitelor în ţesuturi, starea anatomofuncţională a timusului, reacţiile imunitare umorale şi cele cu suport celular.

În afară de caracterizarea acestor afecţiuni, cu toate că pentru unele boli atopice (rinita alergică la polen, astmul şi alte stări alergice) se admite o concentrare familială, în stadiul actual al cunoştinţelor, conturarea clinică şi biochimică a acestora nu permite o analiză genetică concludentă. Se poate aprecia că intervenţia probabilă în aceste sindroame ale clasei de imunoglobuline IgE trebuie să atragă în mod special atenţia asupra necesităţii studierii geneticii sintezei acestor imunoglobuline.

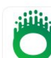
Deoarece trăsăturile ereditare ale bolilor autoimune sînt analizate într-un capitol din acest volum (O. Fodor, N. Părău, G. Nicoară), mai trebuie semnalat că există o predispoziţie ereditară pentru tumorile maligne limforeticulare.

Studierea din ce în ce mai aprofundată a geneticii răspunsului imun permite o privire de perspectivă optimistă a cunoaşterii acestuia şi deci şi a caracterizării bolilor imune ereditare.

BIBLIOGRAFIE

1. Arquila E. R., Finn J. — *J. exp. Med.*, 1965, 122, 771.
2. Berken A., Benacerraf B. — *J. exp. Med.*, 1966, 123, 119.
3. Burtin P., Buffe D. — Immunopathology IV-th Int. Symp., edit. P. Grabar, P. Meischer, 1965, p. 273.
4. Cebra J. — *Bact. Rev.*, 1969, 33, 159.
5. Cohn M. — Nucleic Acids in Immunol, edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, 671.
6. Crowle A. J. — *Ann. Allergy*, 1966, 24, 195.
7. Dannenberg A. M. Jr. — *Bact. Rev.*, 1968, 32, 85.
8. Dreyer W. J., Gray W. R. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 614.
9. Fishman M. — *J. exp. Med.*, 1961, 114, 837.
10. Fishman M., Hammerstrom R. A., Bond U. P. — *Nature*, 1963, 198, 549.
11. Fishman M., Adler F. L., Holub M. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 439.

12. Friedman H. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 505.
13. Gheţie V. — Progrese recente în disciplinele imunologice, Ed. medicală, Bucureşti, 1969, 67—91.
14. Gotlieb A. A. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 471.
15. Gowen J. W., Stadler J. — *J. Infect. Dis.*, 1967, 117, 129.
16. Hannoun C., Bussard A. E. — *J. exp. Med.*, 1966, 123, 1 035—1 046.
17. Hood L., Talmage D. W. — *Science*, 1970, 168, 325.
18. Jean R. şi colab. — *J. Méd. Montpellier*, 1967, 11, 390.
19. Jerne N. K. — *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.*, 1967, XXXII, 591.
20. Jerne N. K. — *Zbl. Bakt.*, 1967, 25, 32.
21. Lennox E. S., Cohn M. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, 36, 365.
22. Levine B. B., Green J., Benacerraf B. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 277.
23. Lüderitz O., Staub A. M., Westphal O. — *Bact. Rev.*, 1966, 30, 192.
24. Maurer P. H., Pinchuck P. — Nucleic Acids in Immunol., edit. O. J. Plescia, W. Braun, Ed. Springer, Berlin, 1968, p. 301.
25. Mazzei D., Sessa, Rugarli C. — *Boll. Ist. sieroter T. milan.*, 1969, 48, 507.
26. McDevitt H. O., Sela M. — *J. exp. Med.*, 1965, 122, 517.
27. Mesrobeanu I., Berceanu St. — Imunologie şi imunopatologie, Ed. medicală, Bucureşti, 1968.
28. Moraru I., Sulica A. — Progrese recente în disciplinele imunologice, Ed. medicală, Bucureşti, 1969, p. 93.
29. Nestorescu N., Ghyka G. — Progrese recente în disciplinele imunologice, Ed. medicală, Bucureşti, 1969, p. 30—65.
30. Nossal G. J. V., Szendenberg A., Ada G. L., Austin C. M. — *J. exp. Med.*, 1965, 119, 485.
31. O. M. S. — Série de raports tehniques, 1968, 402.
32. O. M. S. — Série de raports tehniques, 1969, 423.
33. Pinchuck P., Maurer P. H. — *J. exp. Med.*, 1965, 122, 673.
34. Putnam F. W. — *Science*, 1969, 163, 633.
35. Reisfeld R. H., Sheldon D., Nisonoff A. — *Immunochem.*, 1965, 2, 155.
36. Schlossman S. E. — *New Engl. J. Med.*, 1967, 277, 1 355.
37. Sela M. — *Science*, 1969, 166, 1 365.
38. Sullitzeanu D. — *Bact. Rev.*, 1968, 32, 404.
39. Terry W. D., Parker A. S. Jr., Reisfeld R. A. — *Science*, 1966, 152, 1 628.
40. Watson J. D. — Molecular Biology of the Gene, Ed. W. A. Benjamin, New York, 1965, p. 414—439.
41. Weissman J. L. — *J. exp. Med.*, 1967, 126, 291.
42. Wilson G. S., Miles A. A. — Topley and Wilson's Principles of Bact. and Imm., vol. I, Ed. E. Bronold, Londra, 1964, p. 302—383.



Capitolul al VIII-lea

UNELE PROBLEME GENETICE ALE BOLILOR AUTOIMUNE

O. Fodor, Gh. Nicoară, N. Părău

În ultimii ani, noțiunea de imunitate este tot mai des utilizată în activitatea medicală curentă. Problema este abordată pe planuri diferite, începînd cu acela al unui sistem morfofuncțional de relație a organismului cu mediul, al unui mecanism patogenetic, pînă la acela al unui domeniu de patologie clinică, inclusiv orientare terapeutică.

De asemenea, cunoștințele cele mai recente ale geneticii moleculare, celulare și clinice sînt folosite frecvent în diversele sectoare ale medicinei actuale.

Cu toate progresele deosebite pe care cele două discipline, imunologia și genetica, le-au realizat, în ambele domenii persistă încă numeroase aspecte insuficient elucidate. De aici apare dificultatea abordării problemelor comune, de interferență sau conexe, pe care le ridică imunitatea și genetica pe planul patologiei umane.

Bolile autoimune pot fi considerate ca expresie a conflictului dintre antigenul sensibilizant și factorii umorali sau celulari ai răspunsului imun, la nivelul organului-țintă. Acest conflict rezultă din perturbarea fenomenului toleranței imunologice. Apare deci că o boală autoimună poate surveni ca urmare a unor tulburări care interesează cei doi termeni ai conflictului patologic, antigenul și sistemul imunologic competent. Din acest motiv, problemele comune ale imunologiei și geneticii pot fi împărțite în două categorii: fundamentale și clinice.

I. Aspecte genetice normale ale imunității

II. Date privind intervenția unui factor ereditar în bolile autoimune.

Aspectele fundamentale ale imunogeneticii, grupate în prima categorie, necesită o discuție succintă în scopul plasării problemelor genetice ale patologiei imunologice în ansamblul cunoștințelor biologice și morfologice actuale.

I. ASPECTE GENETICE NORMALE ALE IMUNITĂȚII

1. ANTIGENUL

a) DETERMINISMUL GENETIC AL AUTOANTIGENELOR TISULARE

Pentru natura genetică a structurilor antigenice tisulare normale atît sub raportul complexității, cît și al specificității există numeroase argumente.

Astfel, caracterul genetic determinant al *antigenelor eritrocitare și leucocitare*, care formează diferitele sisteme și grupe sanguine, formula lor genotipică și expresia fenotipică fac parte din domeniul cunoștințelor clasice (32).

În aceeași categorie se înscriu diferitele fracțiuni *proteinice plasmatice* (8, 35, 36), care realizează grupe genetice determinate. Aici se pot încadra haptoglobinele, transferinele (16, 31), colinesteraza serică (24), sistemul Gc al α_2-globulinelor serice (22) și sistemele Gm (19), Inv (33) și Ag (1) ale imunoglobulinelor.

Din cercetările privitoare la imunitatea de transplant și toleranța imunologică cîștigată (3, 4) apare dovedită de asemenea natura genetic determinată a *antigenelor tisulare, de histocompatibilitate*, care prezintă specificitate de grup, de specie, de rasă și de organ (17, 34). Antigenele tisulare sînt de asemenea diferite, în funcție de proveniența țesutului din cele trei foițe embrionare (20). În raport de specificitatea lor se vorbește despre hetero-, homo, izo- și autoantigene.

Natura genetică a autoantigenelor tisulare și a specificității lor de organ apare și din dezvoltarea *filogenetică și ontogenetică* a acestora. În cazul cristalinului de mamifer, de exemplu, sînt cunoscute 3 tipuri de antigene, al căror moment de apariție în scara filogenetică, răspîndire la diferite specii de mamifere și specificitate de organ sînt diferite.

Reiese deci că substanțele antigenice tisulare sau umorale, reprezentate de structuri sau produse celulare complexe, apar în cursul dezvoltării filo- și ontogenetice, ca expresie a cerințelor activității unor structuri și funcții specializate.

2. SISTEMUL IMUNOLOGIC COMPETENT

a) DETERMINISMUL GENETIC AL SUBSTRATULUI CELULAR AL IMUNITĂȚI

În prezent, este binecunoscut rolul țesutului limfoid în realizarea fenomenului de *competență imunologică*, înțeleasă ca o capacitate de reacție specifică a unui sistem celular specializat în condițiile stimulării antigenice. Aceasta se traduce prin sinteză de anticorpi, hipersensibilitate întîrziată și capacitate de eliminare a grefelor.

Caracterul genetic a acestui sistem celular, expresie a evoluției speciilor și a diferențierii celulare, reiese din studiul dezvoltării sale filo- și ontogenetice. Astfel, pe scară filogenetică, un sistem imun apare numai la nivelul vertebratelor. Mai mult chiar, vertebratele inferioare, cum sînt peștii gelatinoși, sînt lipsite de capacitate de răspuns imun și de imunoglobuline.

Primele specii capabile de o reacție imună și la care sînt prezente imunoglobulinele sînt peștii cartilaginoși inferiori. Fenomenul coincide cu dezvoltarea din sistemul branhial al acestora, a timusului, principalul organ-sursă a celulelor imunologic competente (28, 30).

La păsări, dezvoltarea normală a populației de celule imunologic competente stă sub dependența a două organe primare (bursa Fabricius și timusul), din care se formează două populații specializate de celule (2, 5, 28). Unele produc anticorpi circulanți și hipersensibilitate întîrziată și provin din bursă, altele produc eliminarea grefelor și provin din timus.

Mamiferele sînt înzestrate cu un singur organ limfoid primar, timusul, răspunzător de funcţiile combinate ale celor două tipuri de celule imunologic competente. Originea şi dezvoltarea celulelor imunologic competente la mamifere sînt redate schematic în figura VIII, 1. Din celulele epiteliale timice apar iniţial celule limfoide imunologic potenţiale, care prin diferenţiere la acest nivel cîştigă proprietăţi de răspuns imunologic specific şi devin imunologic competente. În perioada perinatală, ele migrează din timus în sînge şi limfă, sub formă de celule imunologic competente, lipsite de memorie imunologică. După contactul cu diferite antigene, ele populează organele limfoide periferice (ganglioni limfatici, splină etc.), sub forma celulelor imunologic competente cu memorie, capabile de răspuns imun.

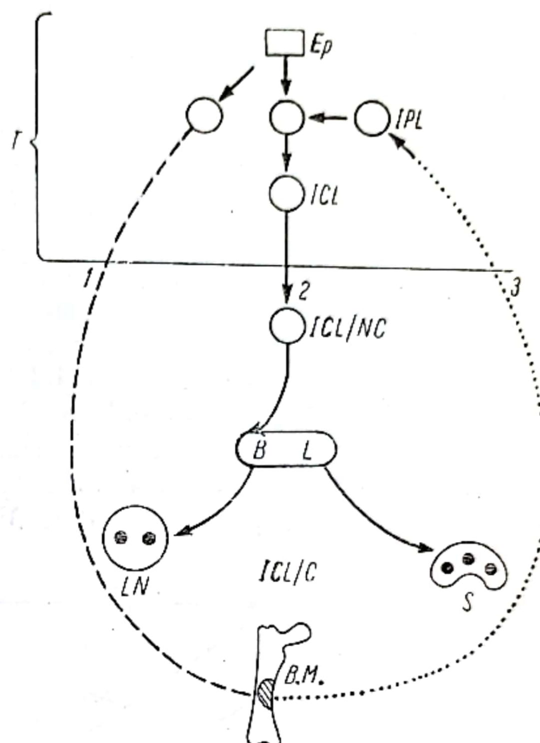


Fig. VIII, 1. — Diagramă ilustrînd o ipoteză celulară privind originea celulelor imunologic competente.
Celulele epiteliale (Ep) din timus (T) produc celule limfoide cu potenţial imunologic (IPL.) Unele migrează din timus (1) înainte de naştere şi apar în organe, cum ar fi măduva osoasă (BM). Altele se diferenţiază în continuare în timus pentru a deveni celule imunologic competente (ICL). Acestea migrează în afara timusului (2) aproximativ la vîrsta naşterii, pentru a circula în sînge şi limfă (B şi L). Acestea sînt limfocite fără memorie (ICL/NC). După stimularea antigenică, ele se fixează în ganglionii limfatici (LN) şi splină (S), unde iniţiază o linie de limfocite cu memorie (ICL/C). Celulele cu potenţial imunologic se pot întoarce în timus (3), pentru a cîştiga competenţă imunologică ori de cîte ori survine o depleţie celulară în ganglionii limfatici şi splină [*după J. F. A. P. Miller*, (28)].

În afară de rolul său de sursă a celulelor competente imunologic, timusul mai îndeplineşte şi funcţia de restaurare a capacităţii funcţionale a sistemului imun, capacitate care poate fi alterată prin cauze diferite. Mecanismul acestei restaurări nu este încă cunoscut.

Dependenţa genetică a sistemului celular imunologic competent apare şi din studiul dezvoltării sale embrionare (18). Astfel, la embrionul de broască, pînă la vîrsta de 45—50 de zile, sînt dezvoltate toate tipurile de leucocite, cu excepţia limfocitelor mici. O dată cu apariţia acestora din urmă, grefele omologe tolerate pînă la această vîrstă vor fi eliminate (28). În acelaşi sens pledează efectul dezastruos produs de ablaţia timusului asupra capacităţii de apărare a mamiferelor, în cazul cînd intervenţia are loc la începutul vieţii, cînd potenţialul imunologic nu este dezvoltat, ca şi efectele neglijabile ale timectomiei într-o perioadă ulterioară (28).

Posibilitatea obţinerii unei toleranţe imunologice induse prin administrarea antigenelor în perioada vieţii embrionare şi insuccesul încercărilor de a induce o astfel de toleranţă în perioada postnatală pledează în acelaşi sens (3, 4).

În concluzie, dezvoltarea celulelor cu competență imunologică depinde de existența primelor organe limfoide care apar pe o anumită treaptă a evoluției filogenetice și a dezvoltării ontogenetice, timusul și bursa Fabricius. Proliferarea celulelor limfoide la acest nivel se află sub un control genetic intrinsec, independent de stimularea antigenică. În organele limfoide secundare, splina și ganglionii limfatici, celulele imunologic competente pot prolifera și reacționa imun în urma stimulării cu antigene potrivite specificității lor funcționale.

b) DETERMINISMUL GENETIC AL IMUNOGLOBULINELOR, SUBSTRAT AL ANTICORPILOR CIRCULANȚI

Se cunoaște că substratul morfologic al anticorpilor circulanți este reprezentat de imunoglobuline. În consecință, sinteza globulinelor anticorpi este un proces determinat genetic, identic cu acela al sintezei proteinice în general și el are loc la nivelul ribosomilor celulelor secretorii, în baza codului genetic deținut de ADN. Atît imunoglobulinele, cît și anticorpii sînt formați din cîte două lanțuri polipeptidice ușoare (lanțuri L) și două lanțuri polipeptidice grele (lanțuri H), cu excepția anticorpilor care aparțin imunoglobulinelor M, care au o structură polimerică (13, 39) (fig. VIII, 2). Se știe că de sinteza

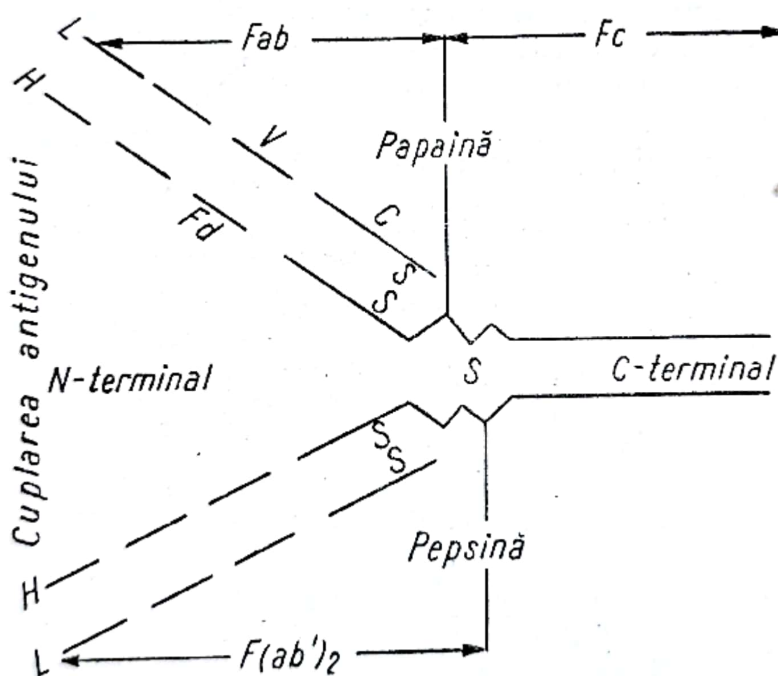


Fig. VIII, 2. — Schema moleculei de IgG cu lanțuri polipeptidice grele (H) și ușoare (L), formată din jumătatea variabilă (V) și cea constantă (C). Produsele scindării cu papaină sînt notate cu Fab, F (ab') și Fc. Punțile disulfidice intercatenare sînt notate cu S—S [*după Fleischman, Porter* și *Press din Wetter O.* (39)].

acestor lanțuri răspund gene specifice. Deoarece lanțurile grele și ușoare pot fi de mai multe tipuri (k și ω pentru lanțurile ușoare și α, γ, δ, ε și μ,

pentru cele grele), prin combinarea lor rezultă 10—16 forme moleculare de imunoglobuline (fig. VIII, 3).

Studiile comparative ale lanțurilor polipeptidice din structura imunoglobulinelor obținute de la mai multe specii arată că, sub aspect filogenetic, lanțurile ușoare (L) apar într-o fază evolutivă foarte timpurie, iar lanțurile grele (H), într-o fază mai tîrzie. Se presupune că ambele tipuri de lanțuri ar putea proveni dintr-o genă precursoare (fig. VIII, 4). Reiese deci că determinismul genetic al anticorpilor și eterogenitatea lor apare din mecanismul de sinteză, legat de codul genetic și din structura lor chimică.

FORME MOLECULARE ALE IMUNOGLOBULINELOR				
Ig G	Ig A	Ig D	Ig E	Ig M
$\gamma_2 K_2$	$\alpha_2 K_2$	$\delta_2 K_2$	$\varepsilon_2 K_2$	$(\mu_2 K_2)_5$
$\gamma_2 \lambda_2$	$\alpha_2 \lambda_2$	$\delta_2 \lambda_2$	$\varepsilon_2 \lambda_2$	$(\mu_2 \lambda_2)_5$

Fig. VIII, — 3. După O. Wetter (39).

Un alt argument în favoarea naturii genetice a globulinelor anticorpi este apartenența lor la sistemele ereditare alotipice Gm și Inv ale globulinelor serice.

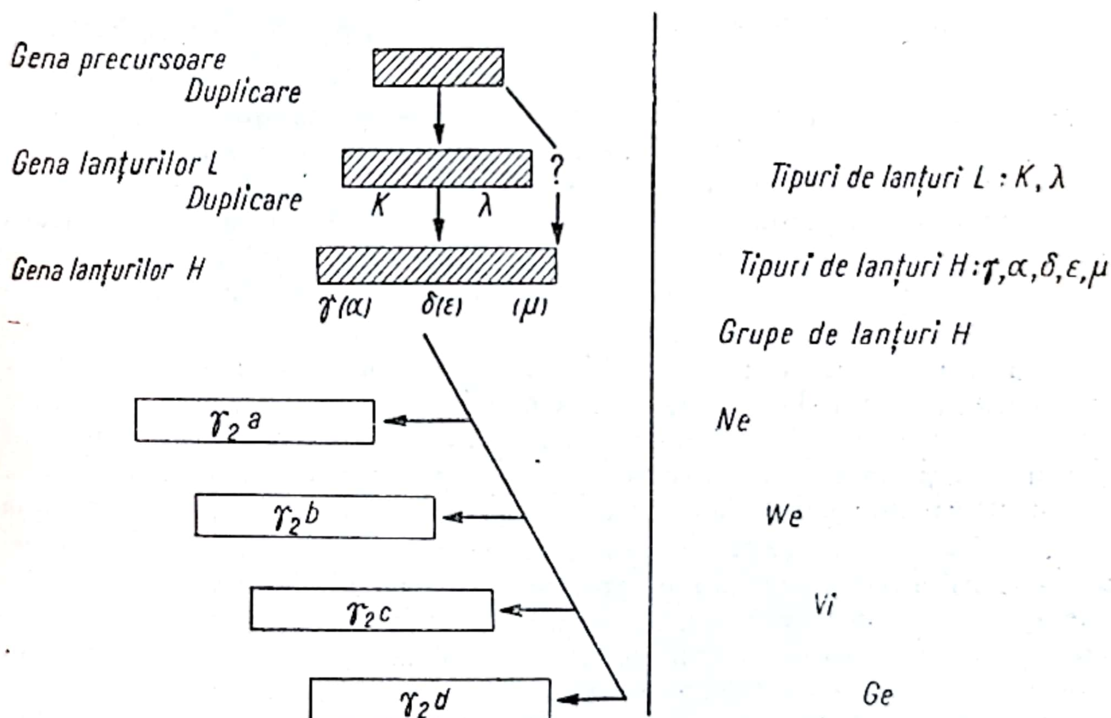


Fig. VIII, 4. — Model de evoluție a genelor imunoglobulinelor provenite, prin duplicare, dintr-o genă precursoare comună. În dreapta sînt reprezentate tipurile corespunzătoare de imunoglobuline [după O. Wetter (39)].

Dacă se ia în considerație diversitatea fenotipică a globulinelor anticorpi după apartenența lor la sistemele Gm și Inv, precum și diversitatea lor în funcție de variatele tipuri de lanțuri grele și ușoare care le compun, *se poate*

explica polimorfismul structural, genetic determinat al anticorpilor cu aceeași specificitate antigenică.

Faptul demonstrat că o celulă imunologic competentă este capabilă să sintetizeze doar un singur fel de anticorp (26, 29) vine în sprijinul teoriei selecției clonale a lui Burnet, care motivează determinismul genetic al specificității răspunsului imun prin diferențiere și specializare funcțională a celulelor imunologic competente în cursul dezvoltării embrionare a acestora la nivelul timusului. Ca urmare a selectării exclusive a liniilor celulare cu specificitate eterologă se dezvoltă aparatul toleranței imunologice.

Un alt element care atestă natura genetică a răspunsului imun este reglarea dinamică a declanșării și opririi sintezei anticorpilor, concepută după sistemul operonului (24), format din gene structurale, gene operatoare și gene reglatoare, ultimele cu efect represor asupra formării de anticorpi.

Din cele expuse reiese că există numeroase date pentru susținerea determinismului genetic al proceselor imune atît în ceea ce privește structura autoantigenelor, cît și a substratului celular și umoral al imunității, a dinamicii răspunsului imun, precum și a toleranței imunologice.

II. DATE PRIVIND INTERVENȚIA UNUI FACTOR EREDITAR ÎN APARIȚIA BOLILOR AUTOÎNTREȚINUTE IMUNOLOGIC

Baza teoretică a autoimunității este cuprinsă în cunoștințele asupra toleranței imunologice, funcție prin care un organism sănătos este capabil să deosebească ceea ce este propriu de ceea ce este străin.

În mod ipotetic, perturbarea acestui mecanism de autorecunoaștere și transformare a unor procese imunitare normale în procese patologice capabile să producă leziuni caracteristice bolilor autoîntreținute imunologic pot surveni în mai multe împrejurări:

1. În cazul pătrunderii în circulație a așa-ziselor *autoantigene sechestrate*, care determină o stimulare antigenică a clonilor de celule imunologic competente, corespunzătoare structurii lor, cloni care nu au fost distruși sau inhibați prin selecție în cursul dezvoltării embrionare. Este cazul tiroglobulinei, al unor structuri antigenice din cristalin, din spermatozoizi și din mielină.

2. *Alterarea prin factori nocivi a diferitelor structuri antigenice proprii* duce la transformarea acestora în produși care nu mai sînt recunoscuți de celulele aparatului imun și care reacționează împotriva lor printr-un răspuns celular și umoral. Această modalitate de autoimunizare are loc foarte probabil în cazul bolilor autoimune experimentale, cînd antigenul este administrat împreună cu adjuvant Freund, precum și în unele boli autoimune umane (hepatită cronică, rectocolită hemoragică, reumatism cronic primitiv etc.).

3. În cazuri particulare, sensibilizarea unui organism cu antigene străine, care prezintă anumiți determinanți comuni cu antigenele proprii, poate determina apariția de anticorpi *cu specificitate încrucișată*, care vor acționa asupra structurilor normale corespunzătoare și după dispariția agentului sensibilizant. Se descrie o astfel de asemănare între antigenele streptococice și cele provenind

din miocard, între bacteriile gram-negative și antigenele de colon, între virusuri și eritrocit etc.

4. *Pierderea capacității de autorecunoaștere* a structurilor antigenice proprii de către aparatul limfoplasmocitar, prin apariția unor mutații somatice patologice la acest nivel și dezvoltarea unor „cloni interziși" de celule imunologic competente, capabile de o activitate agresivă împotriva antigenelor proprii, reprezintă o altă modalitate de autosensibilizare. Perturbarea aparatului imunitar se discută în toate bolile autoimune și reprezintă elementul principal al unui eventual fond genetic în aceste boli.

Nu poate fi exclusă posibilitatea asocierii mai multor modalități de autoimunizare într-un caz dat.

Din datele generale prezentate la început a reieșit dependența genetică atît a structurilor antigenice proprii, cît și a sistemului imunologic competent. Acest fapt le acordă o mare stabilitate, atestată de dezvoltarea normală a organismelor umane supuse în permanență influențelor nocive externe. Față de aceste influențe multiple, bolile autoimune au o frecvență redusă. De altfel ar fi greu de imaginat cum anumiți factori negenetici pot influența radical procese genetice fundamentale, cum este acela al autorecunoașterii. Apare deci logică presupunerea că la baza bolilor autoimune ar putea exista o tulburare genetică a funcțiilor umorale și celulare ale aparatului imunitar, tulburare care reprezintă fondul pe care acționează agenții externi.

Din grupul bolilor pentru care se acceptă o patogeneză autoimună fac parte:

— *colagenoze* (lupoeritematoviscerita, sclerodermia, dermatomiozita, reumatismul cronic primitiv, sindromul Sjögren, periarterita nodoasă);

— *boli endocrine* (tiroidita Hashimoto, unele tireotoxicoze și unele forme de mixedem cîștigat al adultului, unele forme de insuficiență corticosuprarenală idiopatică);

— *boli digestive* (hepatita cronică, rectocolita hemoragică, gastropatia biermeriană);

— *boli hematologice* (anemii hemolitice autoimune, purpure trombocitopenice, granulopenii cronice idiopatice, unele eritroblastoze cronice);

— *boli neurologice* (*miastenia gravis*, leuconevraxite, encefalomielite);

— *boli pulmonare* (silicoza).

Pentru natura autoimună a acestor boli pledează argumentele cunoscute de ordin clinic, imunoserologic, histopatologic, terapeutic și experimental. În tabloul morbid al bolilor amintite există însă și unele trăsături comune întregului grup, care ne atrag atenția asupra existenței reale a unui factor ereditar ce intervine în mecanismul lor de producere. Aceste trăsături pot fi rezumate după cum urmează (11):

1. Prezența în sînge a unor substanțe anormale cu activitate de anticorp, îndreptate împotriva unor țesuturi sau organe, împotriva unor constituenți ai nucleului celular sau împotriva unui factor umoral.

2. Apariția simultană sau succesivă la aceeași persoană, a mai multor boli autoimune, asociere frapantă prin însăși raritatea unora dintre ele (tabelul VIII, 1).

TABELUL VIII-I

	Timom	Tireotoxicoză	Mixedem, tiroidită Hashimoto	Anemie Biermer	Artrită reumatoidă	Miastenie	L. E. D.	Sjögren	Ciroză biliară, hepatită lupoidă	Anemie hemolitică	Purpură trombo-penică	Granulopenie cronică	Eritroblastopenie	P. T. T.	Sclerodermie	Poliarterită nodoasă	Polimiozită	Hiper-gama	Hipo-gama
Timom sau modificări histologice izolate ale timusului		×			×	×	×	×		×	×	×	×	×	×		×	×	×
Tireotoxicoză	×			×	×	×	×			×	×				×		×		
Mixedem, tiroidită Hashimoto				×	×	×	×	×	×	×	×			×				×	
Anemie Biermer		×	×		×			×	×	×	×								×
Artrită reumatoidă	×	×	×	×		×	×	×	×	×							×	×	×
Miastenie	×	×	×		×		×						×				×	×	×
L.E.D.	×	×	×		×	×		×	×	×	×	×		×	×		×	×	
Sindrom Sjögren	×		×	×	×		×		×	×	×	×			×	×		×	
Ciroză biliară, hepatită lupoidă			×	×	×		×	×		×		×			×			×	
Anemie hemolitică idiopatică cu anti-corpi calzi	×	×	×	×	×		×	×	×		×	×	×	×	×	×	×	×	×
Purpură trombopenică idiopatică cronică	×	×	×	×			×	×		×		×	×				×	×	×
Granulopenie cronică idiopatică	×						×	×	×	×	×		×						×
Eritroblastopenie cronică	×					×				×	×	×						×	×
Purpură trombotică trombocitopenică	×		×				×			×						×		×	
Sclerodermie	×	×					×	×	×	×							×	×	×
Poliarterită nodoasă								×		×				×			×	×	
Polimiozită. Dermatomiozită	×	×			×	×	×			×					×	×		×	×
Hipergama-globulinemie	×		×		×	×	×	×	×	×	×			×	×	×	×		
Hipogama-globulinemie	×			×	×	×				×	×	×	×		×		×		

Tabelul VIII, 1. — Tablou sinoptic ce totalizează asocierile de boli autoimune apărute succesiv sau simultan la aceeași persoană și care au fost comunicate în literatură [*după B. Dreyfus* (11)].

3. Alături de substanțele serice caracteristice suferinței, se întîlnesc deseori anticorpi caracteristici mai multor boli autoimune.

4. Unele dintre bolile acestui grup apar la bolnavi cu tumori de timus.

5. Deseori, mai mulți membri ai aceleiași familii sînt afectați de aceeași boală sau de alte afecțiuni din acest grup.

6. La membrii aparent sănătoși din familia bolnavului se poate constata prezența unor anticorpi identici cu cei descoperiți la bolnav sau factori imunoserici de altă natură.

7. Uneori, singura anomalie umorală constatată la rudele bolnavului este reprezentată de modificarea cantitativă a γ-globulinelor.

8. Observația prelungită a acestor persoane relevă, în mod izolat, apariția bolii corespunzătoare modificărilor serologice.

9. În sfîrșit, unele dintre bolile sau anomaliile serologice amintite preced sau însoțesc evoluția unor tumori ale sistemului limfoid.

Pentru ilustrarea celor expuse ne vom referi la cîteva aspecte reprezentative de boli autoimune, la care participarea unui factor ereditar este relevată de investigații familiale:

1. Într-un studiu amplu, efectuat asupra unui număr de 194 de rude de gradele I și al II-lea, aparținînd la 84 de bolnavi cu suferințe tiroidiene (9, 10) (tiroidită Hashimoto, tiroidită limfocitară, mixedem, boală Basedow) se constată la 52 dintre aceștia semne de afectare a glandei tiroide (tiroidită, tireotoxicoză, mixedem, gușă).

Din punct de vedere serologic, autorii pun în evidență de asemenea prezența anticorpilor antitiroidieni la 46% față de 15% la martori, a anticorpilor antinucleari la 11% față de 6% la martori și a anticorpilor antigastrici la 20% față de 8% la martori. Prezența ambelor tipuri de factori seroimuni apare la 10% dintre rude față de 2% la martori.

2. Incidența crescută în anumite familii a bolii clinic manifeste, a tulburărilor seroimunologice specifice (anticorpi anti-factor intrinsec, anti-celule parietale) sau a celor nespecifice (anticorpi antitiroidieni, hipergammaglobulinemie), expresie a unei predispoziții genetice, este demonstrată și în cazul *anemiei biermeriene*.

Astfel, o cercetare efectuată la 220 de rude de gradele I și al II-lea, provenind de la 21 de bolnavi cu anemie biermeriană, evidențiază următoarele tulburări (38):

— anticorpi anti-mucoasă gastrică la 20% dintre rude față de 6% la grupurile de control;

— anticorpi antifactor intrinsec numai la 4 persoane din grupul celor cu teste pozitive pentru mucoasă gastrică;

— anticorpi anti-tireoglobulină la 18% dintre rude față de 5% la martori.

Din 20 de persoane care au prezentat anticorpi anti-mucoasă gastrică, la 15 a fost evidențiată o atrofie gastrică, dar numai 4 persoane au manifestat absorbția defectuoasă a vitaminei B_{12} radioactive.

Analiza arborelui genealogic la cîteva familii studiate arată că anticorpii anti-gastrici pot fi întîlniți la mai multe generații (fig. VIII, 5). Există și posibilitatea ca într-o generație intermediară să nu apară nici o tulburare (fig. VIII, 6). Anticorpii anti-gastrici sînt absenți la urmașii fraților seronegativi și

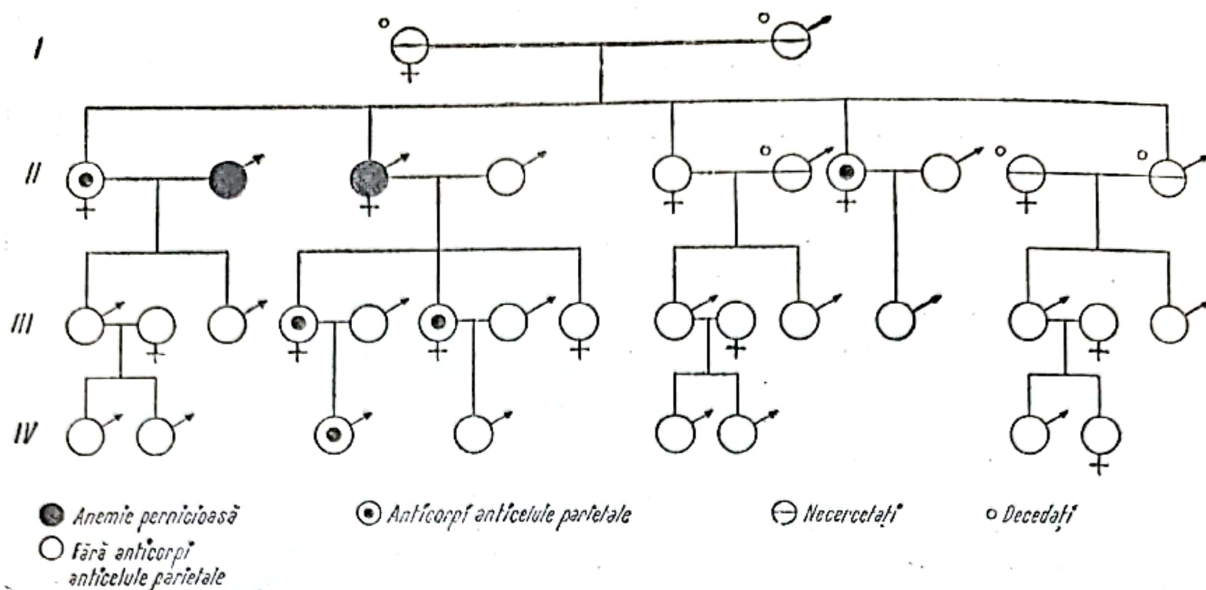


Fig. VIII, 5. — După Velde te K (38).

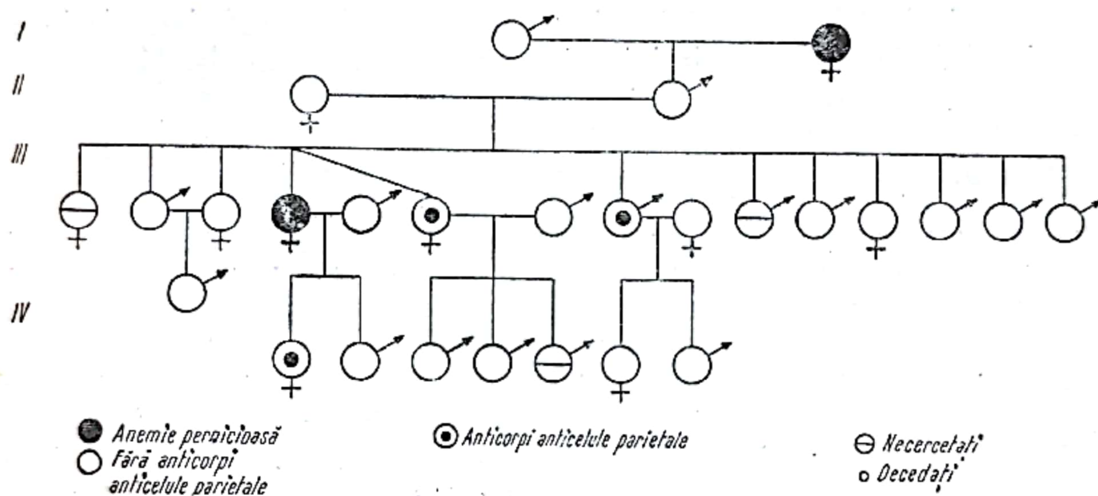


Fig. VIII, 6. — După Velde te K (38).

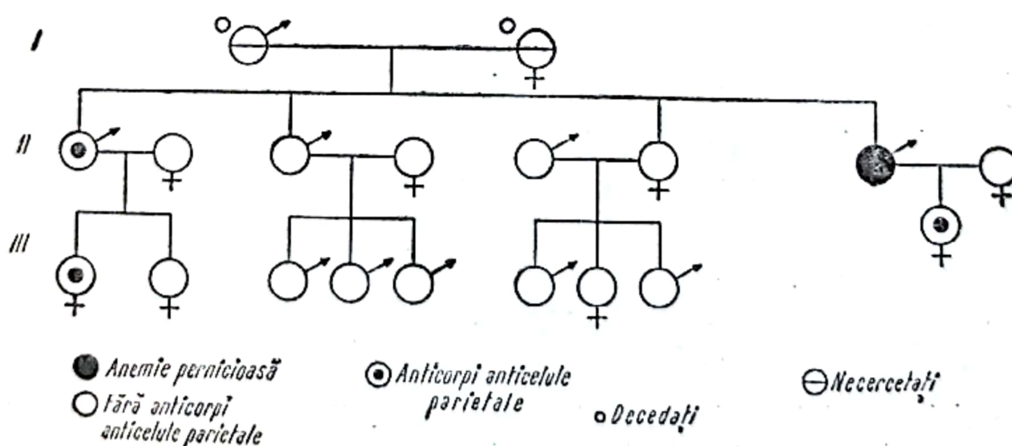


Fig. VIII, 7. — După Velde te K (38).

prezenți la o parte dintre urmașii fraților seropozitivi (fig. VIII, 7). Dacă ambii părinți sînt bolnavi, unii descendenți pot să fie seronegativi (fig. VIII, 8). În sfîrșit, din acest studiu reiese existența mai multor bolnavi în aceeași familie.

Pentru înrudirea patogenetică a celor două boli, tiroidita Hashimoto și gastropatia biermeriană, pledează distribuția manifestărilor alinice și a celor sero-

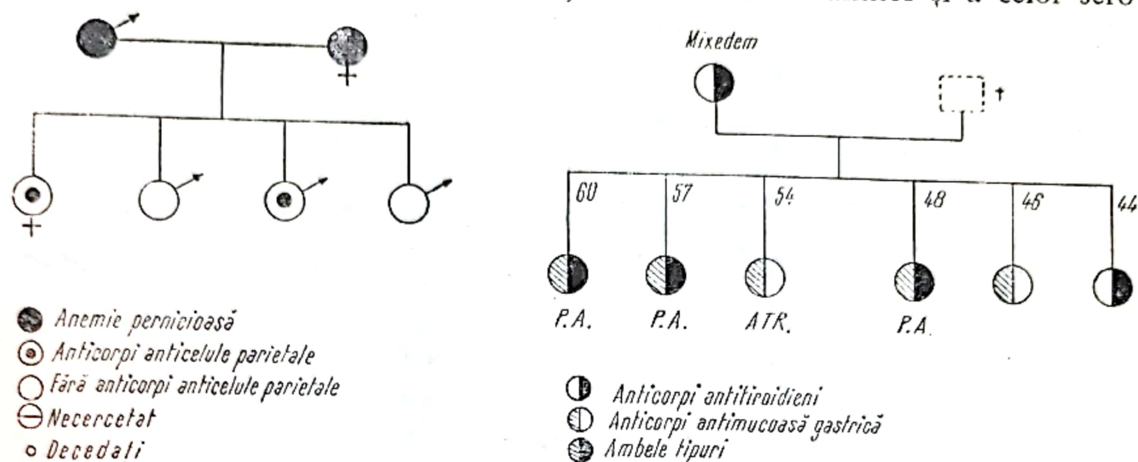


Fig. VIII, 8. — După Velde te K (38). Fig. VIII, 9. — Autoanticorpi în familia unor bolnavi cu anemie pernicioasă [*după G. Doniach* (10)].

imunologice caracteristice lor, la membrii aceleiași familii în care s-au întîlnit mai mulți bolnavi cu anemie pernicioasă (10 fig. VIII, 9).

Astfel, din cele 6 surori, 3 prezintă anemie biermeriană și anticorpi antimucoasă gastrică și anti-tiroidieni. Două surori prezintă numai anticorpi antimucoasă gastrică, iar una numai anticorpi anti-tiroidieni. Mama bolnavelor suferă de mixedem, iar în ser i se constată factorii anti-tiroidieni.

3. În cazul *reumatismului cronic primitiv* există de asemenea date care pledează în favoarea participării unui element genetic la producerea îmbolnăvirii.

Astfel, se constată o anumită relație de frecvență între această suferință a alotipului γ-globulinic Gma, Gmx și Inv_1 (23). Acest fapt concordă cu incidența mai mare a reumatismului cronic primitiv în țările nordice, unde alotipul Gma este mai răspîndit. Sînt descrise de asemenea cazuri de îmbolnăvire concomitentă a gemenilor univitelini (40). Studiile familiale demonstrează apariția de 4 ori mai frecventă a cazurilor de reumatism cronic primitiv în familiile bolnavilor decît în cele de control. Numărul rudelor bolnave este mai mare în cazul probanților cu teste serologice pozitive decît în a celor cu teste seronegative. Factorul reumatoid este prezent de 3 ori mai frecvent în familiile bolnavilor decît la grupurile de control. Influența condițiilor de mediu este eliminată prin constatarea că numărul bolnavilor cu reumatism cronic primitiv care au depășit vîrsta de 65 de ani și care provin din familii în care se mai găsește un bolnav este identic cu cel al bolnavilor din populația generală, cu toate că la aceste persoane factorul reumatoid a fost prezent în 38% din cazuri față de 23% la populația generală.

Fenomenul agregării familiale în reumatismul cronic primitiv îl putem ilustra cu două observații proprii, efectuate într-un studiu mai larg (15): în

prima observaţie este vorba de un bolnav cu reumatism cronic primitiv şi cu testele pentru factorul reumatoid pozitive (latex++; Waaler-Rose 1/512). Un frate al bolnavului suferă de aceeaşi boală cu testele biologice pozitive (latex +++; Waaler-Rose 1/1024), o soră cu reumatism cronic pozitiv, dar cu serologie negativă, mama decedată, cu reumatism cronic primitiv. O fiică prezintă eritem nodos; în cea de a doua observaţie este vorba de un bolnav

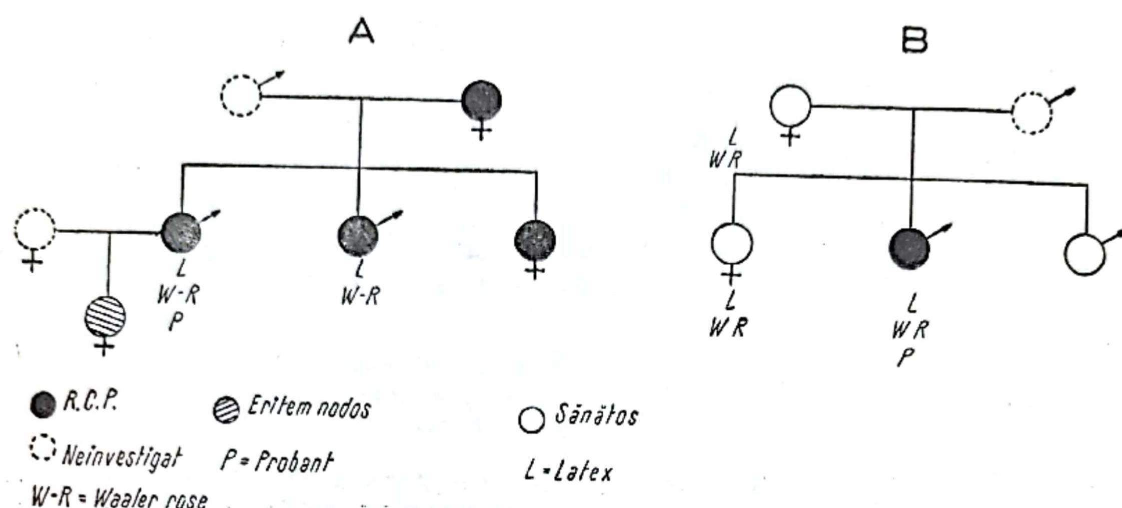


Fig. VIII, 10. — Arborele genealogic aparţinînd membrilor de familie ai unor bolnavi cu reumatism cronic primitiv.

cu diagnostic clinic şi imunoserologic de reumatism cronic primitiv. O soră fără acuze clinice, dar cu factor reumatoid prezent, iar mama fără acuze clinice, dar cu reacţiile pentru evidenţierea factorului reumatoid şi crioglobuline pozitive. Un frate sănătos (fig. VIII, 10).

4. Cu toate că *lupoeritematoviscerita* este o boală rară, cercetările familiale furnizează şi în acest caz argumente valoroase pentru participarea unui factor ereditar.

Ca şi în reumatismul cronic primitiv, se semnalează şi în lupoeritematoviscerită afectarea concomitentă a gemenilor univitelini (6, 27). Se constată de asemenea prezenţa semnelor de boală sau modificări biologice la părinţii sau urmaşii bolnavilor.

Reunirea unor date publicate arată aglomerarea unui număr de 79 de bolnavi cu această suferinţă în 35 de familii (37). Într-o familie cu 14 copii se constată 3 persoane care prezintă tabloul complet al lupoeritematovisceritei, o persoană cu hipergammaglobulinemie accentuată şi alte 4 cu hipergammaglobulinemie mijlocie. La restul membrilor de familie, nivelul mediu al γ-globulinelor serice depăşeşte media grupelor de control.

Studiul arborelui genealogic al familiei unei bolnave cu lupoeritematoviscerită (23) arată că mama şi un frate suferă de reumatism cronic primitiv. La 7 membri de familie este prezent factorul reumatoid. La alţi 2 membri se constată prezenţa unor factori serici anti-tisulari cu altă specificitate, iar la 4 persoane o hipergammaglobulinemie (fig. VIII, 11).

Datele obţinute din studiul arborelui genealogic următor (23) (fig. VIII, 12) pledează tot în sensul existenţei unei predispoziţii ereditare care participă

la realizarea bolilor autoimune, precum şi pentru înrudirea patogenetică a lupoeritematovisceritei cu reumatismul cronic primitiv. Astfel, tatăl unei femei cu lupoeritematoviscerită a prezentat o creştere marcată a γ-globulinelor se-

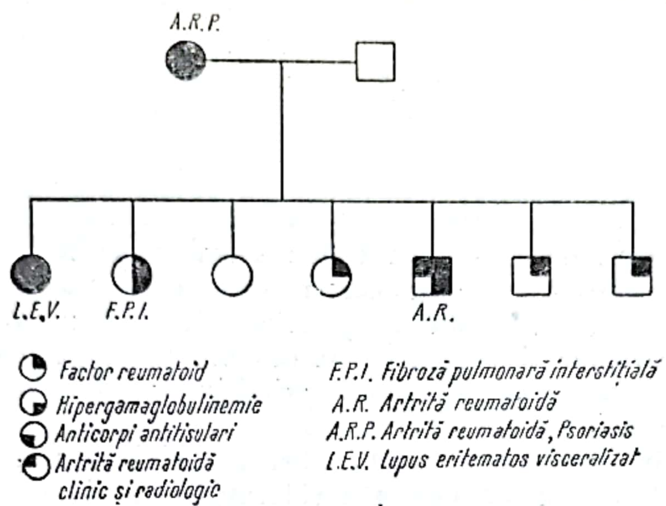


Fig. VIII, 11. — Arborele genealogic al unei bolnave cu lupoeritematoviscerită [*după* R. H. *Holman* (23)].

rice care nu este notată în arborele genealogic. O mătuşă din partea tatălui suferă de lupoeritematoviscerită, iar cealaltă mătuşă din partea tatălui a su-

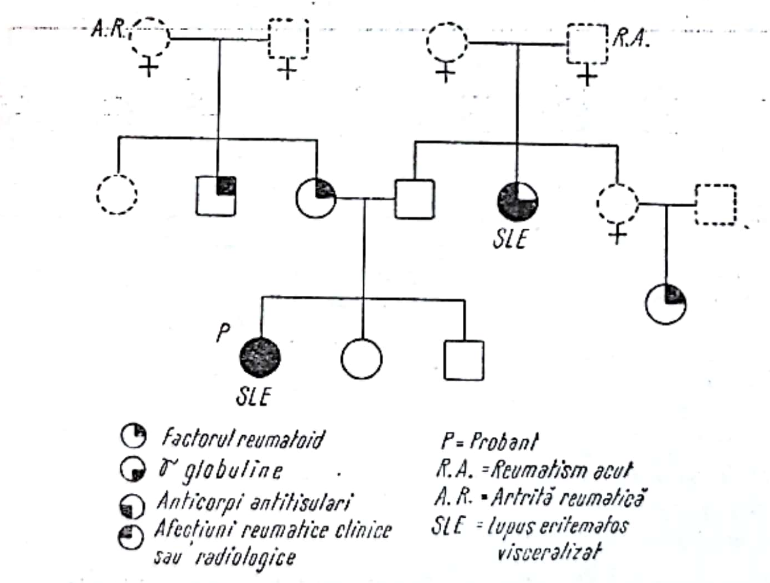


Fig. VIII, 12. — Arborele genealogic al unei bolnave cu lupoeritematoviscerită. Tatăl probantului a prezentat o creştere marcată a γ-globulinelor serice care nu este indicată în arborele genealogic. O mătuşă din partea tatălui a avut lupoeritematoviscerită şi cealaltă mătuşă din partea tatălui a murit cu o inexplicabilă boală renală. Fiica mătuşii din partea tatălui s-a considerat că a suferit de lupoeritematoviscerită, dar cu ocazia testărilor nu s-a constatat decît factor reumatoid circulant. Bunicul din partea tatălui s-a presupus că a suferit de o miocardiopatie reumatică. Mama probantului a prezentat parestezii matinale şi artralgii alături de factorul reumatoid circulant. Bunica din partea mamei s-a presupus că a suferit de artrită reumatoidă tipică. Persoanele marcate cu linii întrerupte nu au fost studiate [*după* R. H. *Holman* (23)].

combat în urma unei suferințe renale neprecizate. Fiica acestei mătuși din partea tatălui a fost suspectată de lupoeritematoviscerită, dar cu ocazia testărilor nu s-a constatat decît factorul reumatoid circulant. Bunicul din partea tatălui s-a presupus că a avut o miocardiopatie reumatismală. Mama probantului a manifestat parestezii matinale și artralgii, alături de factorul reumatoid circulant. Bunica din partea mamei a prezentat semnele unui reumatism cronic primitiv tipic. Persoanele marcate cu linii întrerupte nu au fost studiate serologic.

5. Rolul unui factor ereditar în determinismul *anemiilor hemolitice autoimune* este susținut de numeroase fapte. Semnalăm printre acestea:

— apariția spontană la șoareci a unei anemii hemolitice cu testul Coombs și fenomenul LE pozitive, afecțiune care poate fi transferată unor linii normale de animale prin grefarea timusului prelevat de la animalele bolnave (21);

— asocierea anemiilor hemolitice autoimune cu purpura trombocitopenică, lupoeritematoviscerita, reumatism cronic primitiv, tiroidită Hashimoto, hepatită cronică etc. (11);

— apariția bolii la mai mulți membri ai aceleiași familii alături de descoperirea la rudele acestora a unei alte suferințe cu patogeneză autoimună sau, în mod izolat, a factorilor seroimuni corespunzători (11, 12).

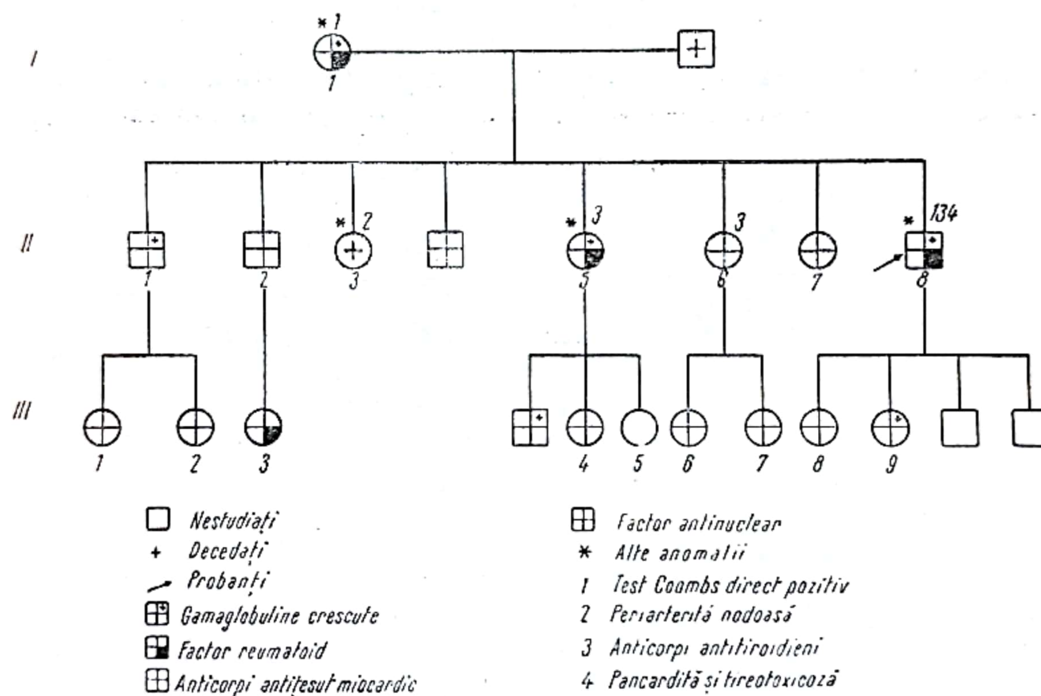


Fig. VIII, 13. — Arbore genealogic ilustrînd incidența familială a anomaliilor imunologice în cursul anemiilor hemolitice autoimune [*după P. J. Fialkow* (14)].

Fenomenul este ilustrat în mod remarcabil de o observație în care mama și fiica suferă de anemie hemolitică cu autoanticorpi, o altă fiică a murit cu periarterită nodoasă, iar din ceilalți 15 membri ai familiei, 4 prezintă hipergammaglobulinemie, 3 — factor reumatoid, 4 — anticorpi anti-tiroidieni și 4 — anticorpi antinucleari (fig. VIII, 13).

Am avut și noi în observație (15) o femeie de 25 de ani, cu tabloul clinic complet al bolii și cu teste serologice antieritrocitare pozitive. Pe lîngă simptomatologia bolii de bază, sînt prezente acuze articulare care pun problema unei colagenoze maligne cu debut prin anemie hemolitică autoimună. Se constată o hipergammaglobulinemie accentuată și proteine crioprecipitabile. Mama bolnavei suferă de aceeași boală, cu teste imunologice pozitive. În serul acesteia din urmă se constată în plus prezența factorului reumatoid, evidențiat prin testul latex +++ și testul Waaler-Rose 1/128, în absența manifestărilor articulare.

6. În sfîrșit, semnalăm că rezultate similare s-au mai obținut în cercetări efectuate în familiile bolnavilor cu hepatită cronică, agammaglobulinemie, hiperglobulinemie Waldenström etc. (7, 12, 15).

Din studiul nostru (15) putem prezenta 2 observații:

— Prima se referă la 2 surori gemene de 11 ani, una cu diagnosticul de hepatită cronică activă, iar cea de-a doua cu ciroză hepatică. Alte 2 surori prezintă hepatită epidemică în antecedente și a 5-a soră este sănătoasă. Mama bolnavelor și o soră a mamei prezintă icter în antecedente. Tatăl fetițelor este sănătos, dar are un frate cu icter. Acesta din urmă are un copil sănătos și altul cu hepatită cronică.

— Cea de-a 2-a observație se referă la un bolnav cu hepatită cronică activă. Din punct de vedere seroimunologic, acesta prezintă mai mulți factori cu tropism hepatic și extrahepatic. Printre aceștia din urmă, testele de eviden-

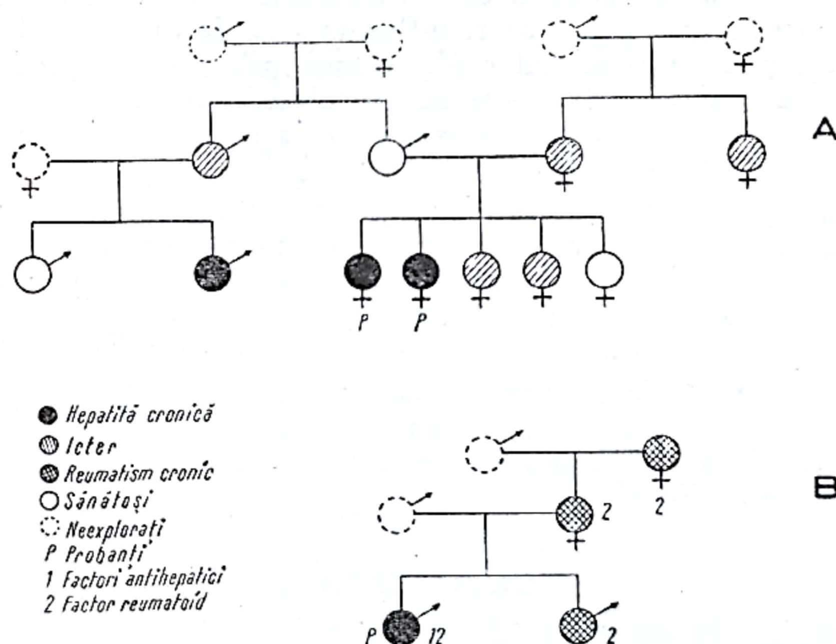


Fig. VIII, 14. -Arbori genealogici ai familiilor unor bolnavi cu hepatită cronică.

țiere a factorului reumatoid apar net pozitive (testul latex +++, reacția Waaler-Rose 1/128). Un frate al bolnavului prezintă reumatism cronic primitiv cu testele pozitive pentru factor reumatoid (latex ++, reacția Waaler-Rose 1/16). Mama bolnavului prezintă semne clinice și seroimunologice de reumatism cronic primitiv. Bunica a decedat cu semnele clinice ale aceleiași boli (fig. VIII, 14).

În rezumat, caracterul familial al bolilor cu patogeneză autoimună poate avea 4 modalităţi de manifestare:

1. Prin semnele unei boli identice cu cea constatată la probant.

2. Numai prin modificările biologice caracteristice bolii probantului.

3. Prin semnele unei boli diferite, dar care aparţine aceluiaşi grup.

4. Prin anomalii globulinice diferite de cele ce caracterizează boala probantului, dar care aparţin altor boli din acelaşi grup.

Cît priveşte *natura predispoziţiei ereditare şi modul său de transmitere*, în baza datelor existente pînă în prezent, problema nu pare a fi pe deplin elucidată. Asocierea la acelaşi bolnav a mai multor boli autoimune sau apariţia la membrii aceleiaşi familii a unor boli autoimune diferite, existenţa formelor de trecere în două boli cu patogeneză autoimună, alături de polimorfismul anomaliilor umorale întîlnite la bolnavi sau la rudele acestora, pledează pentru o perturbare morfofuncţională a sistemului reticulohistiocitar anticorpo- şi globulinoformator. Această perturbare are însă un caracter nespecific şi permite instalarea unei game largi de modificări patologice.

Pentru fiecare boală în parte este discutată dependenţa acestei anomalii fie de o singură genă, fie de mai multe (9, 10, 11, 23, 37, 38).

Unii afirmă că tulburarea ar fi generată de o singură genă autozomală (absenţa susceptibilităţii legată de sex), dominantă (tulburările apar şi la heterozigoţi), cu penetranţă variabilă pentru diferitele boli. Penetranţa şi expresivitatea acestei gene patologice ar fi influenţată de factori externi sau interni. Realizarea completă a trăsăturilor pleiotropice aflate sub dependenţa sa este reprezentată de boala clinic manifestă, cu tulburări umorale corespunzătoare. Realizarea incompletă se manifestă prin apariţia izolată a diverselor tulburări serologice la rudele bolnavilor.

În baza faptului că tulburările proteinice întîlnite în cursul bolilor autoimune interesează diferite fracţiuni şi că structura acestora este dependentă de gene multiple, se susţine şi ipoteza că perturbarea sistemului imunoformator este o trăsătură patologică care stă sub dependenţa mai multor gene. Predispoziţia ereditară urmează în acest caz legile transmiterii poligenice.

Faptul că cercetările efectuate pînă în prezent nu permit precizarea naturii exacte a tulburărilor care reprezintă elementul ereditar al bolilor autoimune şi modul lor de transmitere, demonstrează necesitatea continuării investigaţiilor în această direcţie.

CONCLUZII

1. Cei doi termeni ai conflictului autoimun (autoantigenul şi sistemul imunologic competent) au un determinism genetic.

2. Instalarea bolilor cu patogeneză autoimună este rezultatul modificării structurii autoantigenului sau al perturbării sistemului imun înzestrat cu capacitate de autorecunoaştere.

3. La perturbarea aparatului imunitar participă un factor genetic (anomalie unigenică sau poligenică).

4. Modul de transmitere este cel întîlnit la caracterele legate de gene autozomale dominante, cu penetranţă mică.

5. Factorii de mediu pot modifica penetranţa şi expresivitatea caracterului patologic transmis.

BIBLIOGRAFIE

1. Allison A. C., Blumberg B. S. — *Lancet*, 1961, 1, 634.
2. Auerbach R., Good R. A., Gabrielsen A. E. — Conference on the Thymus, Mineapolis — Minnesota, 1962.
3. Billingham R. E., Silvers W. K. — Transplantation of tissues and cells, Wister Institute, Philadelphia, 1961.
4. Billingham R. E., Brendt I. Medawar P. B. — *Nature (Lond.)*, 1955, 172, 603.
5. Block M. — *Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.*, 1963.
6. Brunjes S., Zike K., Julian R. — *Amer. J. Med.*, 1961, 30, 529.
7. Cavell B., Leonhardt T. — *Acta med. scand.*, 1965, 177, 6, 751.
8. Cohen B. L., Schreffner A. — *Genet. Res.*, 1961, 2, 306.
9. Doniach D., Roitt I. M., Taylor K. B. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1965, 124, 2, 605.
10. Doniach G., Roitt I. M., Taylor K. B. — *Brit. med.*, 1963, 1, 374.
11. Dreyfus B. — *Nouv. Rev. franç. Hemat.*, 1964, 4, 5, 669.
12. Elling P., Ranlov P., Bildsoe P. — *Acta med. scand.*, 1966, 179, 5, 527.
13. Fahey J. L. — *J. Amer. med. Ass.*, 1965, 194, 255.
14. Fialkow P. J., Fudenberg H., Epstein W. V. — *Amer. J. Med.*, 1964, 36, 2, 188.
15. Fodor O., Părău N., Nicoară Gh. — Probleme privind aspectul ereditar al unor boli cu caracter autoimun (sub tipar).
16. Giblett E. R. — The plasma transferins, edit. A. G. Steinberg, A. G. Bearn, Progress in medical genetics, vol. II, Ed. Grune şi Stratton, New York — Londra, 1962.
17. Gluecksohn-Waelsch S. — *Amer. J. hum. Genet.*, 1961, 13, 113.
18. Good R. A. — The development of the central and peripheral lymphoid tissue, Ontogenetic and phylogenetic considerations, The Thymus, CIBA Found Symp, Ed. Churchil, Londra, 1966.
19. Grubb R., Laurell A. B. — *Acta path. microbiol. scand.*, 1956, 39, 390.
20. Harris T. N., Harris S. — *Amer. J. Med.*, 1956, 20, 1, 114.
21. Helyer B. J., Howie I. B. — *Brit. J. Haemat.*, 1963, 9, 119.
22. Hirschfeld J., Beckman L. — *Acta. genet. (Basel)*, 1960, 10, 48.
23. Holman R. H. — Clinical and immunological evidence for a predisposition to rheumatic disease in certain families, edit. A. G. Steinberg, A. G. Bearn, Progress in Medical Genetics, vol. II, Ed. Grune şi Stratton, New York — Londra, 1962.
24. Jacob F., Monod J. — On the regulation of gene activity, *Cold Spri. Harb. Sympi. quant. Biol.*, 1961, 26, 193.
25. Kalow W., Gunn D. R. — *Ann. hum. Genet.*, 1959, 23, 239.
26. Lederberg J. — *Science*, 1959, 129, 1 649.
27. Leonhardt T. — *Lancet*, 1957, 7 007, 1 200.
28. Miller J. F. A. P. — *Brit. med. Bull.*, 1963, 19, 3, 214.
29. Nossal G. J. V. — Cellular Genetics of immune response, edit. W. H., Taliaferro, J. H. Humphrey, Advances in Immunology, vol. II, Ed. Academic Press, New York — Londra, 1962.
30. Papermaster B. W., Condie R. M., Good R. A. — *Nature (Lond.)*, 1962, 196, 355.
31. Parker W. C., Bearn A. G. — *Ann. hum. Genet.*, 1961, 25, 227.
32. Race R. R., Sanger R. — Blood Groups in man, Ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1962.
33. Ropartz C. — *Rev. franç. Étud. clin. biol.*, 1960, 5, 933.
34. Snell G. D. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1957, 69, 555.



35. Steinberg A. G. — Progress in the study of genetically determined human gamma globulin types (the Gm and Inv. groups), edit. A. G. Steinberg, A. G. Bearn, Progress In Medical genetics, vol. II, Ed. Grune și Stratton, New York — Londra, 1962.
36. Tomasi T. B. Jr. — *Blood*, 1965, 25, 382.
37. Vasey H. — Arguments en faveur de l'intervention d'un facteur génétique dans la transmission du lupus érythémateux disséminé, Thèse, Faculté de Médecine, Genève, Ed. Expansion, Paris, 1965.
38. Veldete K., Abels J., Anders G. J. P. A., Arends A., Hoedemaeker Ph. J., Nieweg O. — *J. Lab. clin. Med.*, 1964, 64, 2, 177.
39. Wetter O., Schmidt C. G. — *Klin. Wschr.*, 1968, 46, 8, 401.
40. Ziff M., Schmid F. R., Lewis A. J., Tanner M. — *Arthr. and Rheum.*, 1958, 1, 376.



Capitolul al IX-lea

IMPORTANȚA GENETICEI ÎN PATOLOGIA NEUROLOGICĂ

M. Șerban și M. Morariu

Dezvoltarea actuală de mare amploare a geneticei umane a contribuit, pe de o parte, la adîncirea cunoașterii domeniului particular al patologiei ereditare dar, pe de altă parte, a impus, prin fundamentarea științifică a concepției intuitive despre constituție, reconsiderarea domeniului general al întregii patologii, într-o optică nouă. Genetica umană și-a extins astfel aplicabilitatea în patologie de la parte la întreg și a înlocuit, în descifrarea determinării unui anume proces patologic, concepția existenței sau non-existenței eredității prin aceea a măsurii în care înzestrarea ereditară se alătură factorilor de mediu. Exprimată prin valori statistice semnificative, care arată că la fiecare 10 000 de idivizi apare o boală ereditară specifică și că fiecare al 20-lea individ prezintă o oarecare tulburare de origine genetică (56), optica nouă impusă în patologie de considerabila extindere a obiectului geneticei umane justifică importanța cu totul deosebită a acestuia din urmă.

Dacă la aceste cîteva considerații care privesc cadrul integral al patologiei și geneticei umane adăugăm că neurologia, ca domeniu patologic și genetic parțial, cuprinde peste 100 dintr-un număr total de aproximativ 500 de boli ereditare, importanța neurogeneticei nu ne obligă la sublinierea ei.

Este evident că într-un domeniu, ca acela al neurologiei, ale cărui implicații genetice depășesc în amploare orice altă specialitate medicală, încercarea de a cuprinde într-o expunere limitată întreaga patologie ereditară a sistemului nervos ar fi de la început sortită eșecului. De aceea, indiferent de semnificația tematică a titlului, în expunerea noastră, care nu poate și nu pretinde să aibă un caracter exhaustiv, vom dezbate numai aspectele principale ale bolilor neurologice genetice mai importante sau mai interesante, în lumina cunoștințelor actuale.

Avînd în vedere specificitatea patologiei neurologice și contingențele ei minime cu celelalte specialități medicale, am preferat în ordonarea și dezvoltarea materialului, în locul aplicării exemplificate la neurologie a datelor generale de genetică, prezentarea sistematică a celor mai importante afecțiuni ale sistemului nervos cu determinare ereditară. Cu toate acestea, conturarea în general al principalelor aspecte genetice, asupra cărora vom insista în

tratarea separată a fiecăreia dintre bolile neurologice ereditare, cu specificările lor particulare, este necesară. Acestea sînt: diagnosticul şi încadrarea nosografică, modul de transmitere, distribuţia geografică şi incidenţa, anomaliile cromozomiale şi tulburările metabolice ale unor afecţiuni nervoase ereditare şi, în sfîrşit, recunoaşterea stării de heterozigotism.

PRINCIPALELE ASPECTE GENETICE ALE BOLILOR NEUROLOGICE EREDITARE

1. **Diagnosticul şi încadrarea nosografică** a unei afecţiuni nervoase ereditare constituie, în mod firesc, cea mai importantă problemă de neurogenetică. Rezolvarea acesteia nu este însă totdeauna uşoară. Dacă într-un anumit caz se presupune o boală ereditară a sistemului nervos, posibilităţile de a verifica această supoziţie sînt în mod obişnuit limitate de memoria deficitară a bolnavului, de tulburările lui psihice sau de cunoaşterea superficială a datelor sale familiale. Pe de altă parte, nu rareori există importante dificultăţi în încadrarea nosografică a unei afecţiuni neurologice genetice produse fie de apariţia fenocopiilor, fie de aceea a genocopiilor. Fenocopiile generează riscul de a atribui în mod eronat unei afecţiuni ereditare simptome cauzate de factorii externi, iar genocopiile realizează condiţia în care acelaşi fenotip exprimă mai multe genotipuri diferite.

2. **Transmiterea bolilor ereditare neurologice** este extrem de variată. Unele afecţiuni neurologice ereditare se transmit după o singură modalitate (coreea cronică Huntington), altele după modalităţi multiple (paraliziile spastice spinale familiale, boala Charcot-Marie-Tooth etc.). În general, însă, toate tipurile mari de transmitere ereditară sînt ilustrate de afecţiunile sistemului nervos.

Dar transmiterea bolilor ereditare în general şi a afecţiunilor neurologice în special nu permite totdeauna distincţia netă între modul dominant pe de o parte şi cel recesiv pe de altă parte. În cadrul aşa-zisei eredităţi intermediare, această deosebire tinde să se estompeze. În mod clasic, se susţine că genele dominante afectează fenotipul în stare heterozigotă, iar genele recesive se exprimă fenotipic numai în starea homozigotă. B. Pedersen (107) arată însă că unele gene recesive se pot exprima, prin anumite simptome, şi în starea heterozigotă. Aceste gene, zise intermediare, ar poseda două grade de exprimare: în doză simplă (stare heterozigotă), cînd se produce un anumit grad de anomalie, cu o transmitere apropiată de modul dominant, şi în doză dublă (stare homozigotă), în care anomalia este mult mai exprimată, iar modalitatea de transmitere apare de tip recesiv. Fenilcetonuria, ca afecţiune care se transmite recesiv, poate fi atribuită unei gene intermediare.

Caracterizarea completă a modului de transmitere a unei afecţiuni ereditare mai implică aprecierea gradului de penetranţă şi expresivitate ca fenomene legate aproape exclusiv de starea de heterozigotism al genelor patologice cu transmitere dominantă.

3. **Distribuţia geografică şi incidenţa** bolilor neurologice ereditare constituie aspecte importante în descripţia genetică a acestora. În ultimele decenii au fost individualizate boli neurologice genetice, cu o frecvenţă ridicată în

cadrul unor populații relativ unitare din punct de vedere etnic și pe un teritoriu mai mult sau mai puțin bine delimitat: scleroza laterală amiotrofică din insula Guam, boala Kuru, sindromul Sjögren-Larsson etc. Frecvența genei patologice la populația dată, indicele de mutație a genei considerate și indicele de fertilitate sînt parametri în funcție de care se apreciază incidența unei boli genetice. În general, la o populație dată, factorii menționați mai înainte concură la realizarea unui echilibru genetic. Neurofibromatoza Recklinghausen, caracterizată din acest punct de vedere printr-un indice de mutație ridicat, asociat la o reducere a indicelui de fertilitate, ilustrează o modalitate de realizare a acestui echilibru genetic.

4. Extrem de rar au fost semnalate *aberații cromozomiale* în bolile neurologice ereditare propriu-zise. Anomaliile cromozomiale structurale sau numerice, descrise de unii cercetători în boala Sturge-Weber, distrofia musculară miotonică Steinert, scleroza multiplă, nu au fost confirmate de alți cercetători. În orice caz, pînă la ora actuală nu avem date suficient de concludente despre originea cromozomială-aberativă a unor afecțiuni neurologice ereditare.

Coborînd însă pe scara dimensiunilor de la eredopatiile cromozomiale pînă la mutațiile punctiforme, eredopatiile metabolice ne permit, în descifrarea mecanismului genetic intim, apropierea de gene. În multe din bolile neurologice ereditare au fost evidențiate „erori înnăscute de metabolism" ale unor substanțe enzimatice sau neenzimatice (degenerescența hepatolenticulară, boala Refsum, leucodistrofii, distrofiile musculare progresive), dar în puține din ele tulburările metabolice constatate pot fi cuprinse într-o concepție patogenică unitară și certă. Într-un număr, cel puțin la fel de ridicat, de afecțiuni cu certitudine ereditare ale sistemului nervos, asemenea tulburări metabolice nu au fost încă evidențiate, cu toate că existența lor nu pare îndoielnică. Aceste afecțiuni, deocamdată nedefinite în termeni biochimici, au rămas calificate cu atributele generice de „degenerative" sau „abiotrofice", care implică mai degrabă o calitate deosebită față de bolile cu o patogenie mai mult sau mai puțin cunoscută decît specificarea vreunui mecanism de producere.

5. În sfîrșit, **recunoașterea stării de heterozigotism** beneficiază de o mare importanță practică, legată de acordarea sfatului genetic; dacă natura defectului metabolic genetic este cunoscută, analiza biochimică poate deseori identifica heterozigotismul ca în: fenilcetonurie, boala Tay-Sachs etc. Uneori sînt necesare examinări de laborator complete: în distrofia musculară pseudohipertrofică Duchenne, ce se transmite după modul X cromozomial recesiv, femeile purtătoare și transmițătoare, dar care nu fac boala, pot fi depistate prin determinarea serică a creatinofosfokinazei, aldolazei și transaminazelor și prin măsurarea timpului de circulație (104). În sfîrșit, în coreea cronică Huntington, înregistrările electromiografice au permis descoperirea unor descărcări bruște intermitente în timpul repausului, la copiii unor părinți bolnavi, în absența oricăror semne clinice (65).

BOLI NEUROLOGICE CU DETERMINISM GENETIC

În descripția separată a celor mai importante afecțiuni ereditare ale sistemului nervos ne vom referi la trăsăturile particulare ale acestor cîtorva aspecte genetice principale, dezbătute în general mai înainte.

Fără a insista asupra dificultăţii aproape insurmontabile de a elabora o clasificare, în acelaşi timp cuprinzătoare şi unitară (74, 75), în sistematizarea bolilor neurologice ereditare, ne-am condus după criteriile anatomic, funcţional, clinic şi genetic. Considerînd criteriul etiopatogenetic implicat în ereditate, am încercat să transpunem deci, la nivelul nosografic al unui grup sau subgrup de afecţiuni, criteriile care definesc cadrul nosografic al unei singure afecţiuni. Astfel se pot distinge trei grupe mari de boli cu ereditate certă sau incertă şi cu implicare nervoasă unică sau asociată:

I. *Eredopatiile displaziante şi blastomatoase cu manifestări nervoase* (malformaţiile congenitale şi facomatozele);

II. *Bolile neurologice propriu-zise cu determinism genetic* (bolile mieline, eredoataxiile, bolile extrapiramidale, bolile piramidale şi bolile neuromusculare);

III. *Bolile neurologice cu ereditate incertă* (epilepsia, scleroza în plăci etc.).

Le vom expune în ordine, insistînd asupra afecţiunilor mai importante şi mai interesante din punct de vedere genetic.

I. EREDOPATIILE DISPLAZIANTE ŞI BLASTOMATOASE CU MANIFESTĂRI NERVOASE

1. MALFORMAŢIILE CONGENITALE

Ereditatea reprezintă un factor important în etiologia malformaţiilor în general, alături de acţiunea teratogenă a agenţilor externi. Actualitatea şi importanţa problemei poate fi ilustrată prin discrepanţa dintre descreşterea mortalităţii infantile din Anglia în ultimii 60 de ani (de la 138 decese şi 1 000 de naşteri, la 21 decese şi 1 000 de naşteri) şi numărul deceselor infantile prin malformaţii congenitale, care a rămas practic neschimbat, în aceeaşi perioadă de timp (4,3/1 000 în 1901 şi 4,1/1 000 în 1961) (112).

Principalele malformaţii congenitale cu implicare nervoasă, în constituirea cărora se poate incrimina factorul ereditar sînt: anencefalia, microcefalia, hidrocefalia, diverse agenezii ale sistemului nervos (de lobi olfactivi, corp calos, vermis cerebelos, rinencefal), craniostenozele, sindromul Dany-Walker, malformaţiile joncţiunii cervicooccipitală, spina bifida, siringomielia.

Cele mai frecvente dintre acestea (anencefalia, microcefalia, spina bifida) par condiţionate de participarea unui factor predispozant, dar concordanţa insuficientă dintre gemeni, din acest punct de vedere, pledează împotriva unei predispoziţii genetice. Viitorul ne va arăta dacă este vorba de o predispoziţie monogenică sau poligenică sau dacă fondul genetic multifactorial depăşeşte cadrul unei predispoziţii de bază.

Malformaţiile joncţiunii cervicooccipitale (platibazia, sindromul Klippel-Feil, sindromul Arnold-Chiari şi cu deosebire impresiunea bazilară) se manifestă clinic prin simptome neurologice de tip cerebel-bulbo-medular, care apar din deceniul al 2-lea pînă în deceniul al 5-lea de viaţă şi care deseori ridică dificile probleme de diagnostic diferenţial, în special cu scleroza în plăci. Din studierea sistematică a malformaţiilor congenitale asociate rezultă că malfor-

mațiile joncțiunii cervicooccipitale apar precoce în timpul dezvoltării embrionare, pînă la sfîrșitul celei de-a II-a luni de viață intrauterină. Într-un studiu recent, clinic, radiologic și genetic (95), se apreciază că impresiunea bazilară poate fi produsă prin mutații în genele cromozomilor autozomali și că ea recunoaște un mod de transmitere dominant, cu penetranță redusă.

Asocierea mai multor malformații nervoase de tipul sindromului Dany-Walker, Arnold-Chiari și siringomieliei pledează, după P. Tridon (139), pentru teoria patogenică a statusului disrafic.

2. FACOMATOZELE

Sînt displazii congenitale cu manifestări multiple nervoase, cutanate și viscerale. Caracterul ereditar al acestora apare deseori în mod indiscutabil net, iar transmiterea lor este autozomală dominantă. În general se pot distinge două mari grupe de facomatoze: facomatoze cu predominanță neuroglioblastică și facomatoze cu predominanță angioblastică (75): din prima grupă fac parte neurofibromatoza Recklinghausen, scleroza tuberoasă, gliomatozele și glioblastomatozele familiale, iar din a doua grupă fac parte angiomatoza encefalotrigeminală sau boala Sturge-Weber, angiomatoza retino-cerebelo-medulară sau boala von Hippel-Lindau și angiomatoza facio-retino-talamo-diencefalică sau boala Dechaumme-Bonnet-Blanc.

a) **Neurofibromatoza Recklinghausen,** ca tip de facomatoză neuroglioblastică, se caracterizează din punct de vedere clinic prin simptome cutanate (pete pigmentare și tumori cutanate), manifestări nervoase, care atestă afectarea sistemului nervos periferic și central, inclusiv tulburări vizuale, prin interesarea nervului optic, modificări osoase (cifoscolioză, modificări de talie etc.) și simptome viscerale. Marea diversitate de manifestare clinică a acestei afecțiuni corespunde unui substrat morfolezional de o natură și topografie variată, a cărui constituire, insuficient descifrată, se explică în general printr-un mecanism polidisplazic. Substratul morfologic și patologic al bolii Recklinghausen este însă dominat în special de prezența unor tumori, de tipul neurofibroamelor, cu sedii diferite pe traiectul rădăcinilor și nervilor periferici (rahidieni și cranieni), și de tipul glioamelor (glioblastoame, oligodendroglioame), cu localizări variate în sistemul nervos central (intramedulare, cerebrale, optochiasmatice). Dezvoltarea neurofibroamelor se atribuie unei tulburări în procesul de migrare și repartiție a celulelor Schwann primordiale în sistemul nervos periferic, iar aceea a glioamelor, unui mecanism asemănător, raportat la celulele gliale, în sistemul nervos central.

Factorii determinanți ai bolii Recklinghausen fie genetici, fie dobîndiți, trebuie să acționeze foarte timpuriu în decursul embriogenezei, în orice caz înainte de prima lună a vieții embrionare. Transmiterea acestei afecțiuni este de tip autozomal dominant, cu o penetranță ridicată. În unele familii s-a putut urmări boala de-a lungul a 5—6 generații. O importantă caracteristică a bolii este marea ei variabilitate intra- și interfamilială. Fertilitatea bolnavilor este extrem de scăzută: din 466 de cazuri publicate în literatură pînă în 1965, care au ajuns la o vîrstă mai înaintată, numai 15% au avut urmași (80). Rata

de mutație stabilită de F. W. Crowe, W. J. Schull și J. V. Neel (32) este de 1×10^{-4} pe gamet și generație, pînă în prezent cea mai ridicată din genetica umană pentru o afecțiune cu mod de transmitere dominant.

b) Spre deosebire de boala Recklinghausen, facomatoză cu predominanță neuroglioblastică, **angiomatoza encefalo-trigeminală** sau **boala Sturge-Weber** reprezintă un tip de facomatoză cu predominanță angioblastică. În forma sa completă, boala cuprinde asocierea dintre un nev vascular al feței, glaucom congenital și o angiomatoză a creierului de aceeași parte, cu depunere de calciu. Clinic, leziunea cerebrală se manifestă prin crize de epilepsie jacksoniană sau generalizate, hemipareză, hemianopsie, oprire în dezvoltarea intelectuală, nevralgie trigeminală etc. (8). Din punct de vedere genetic, boala Sturge-Weber s-ar datori unei gene cu penetranță redusă, a cărei manifestare fenotipică ar depinde în același timp de genele vecine și de factorii peristatici. Modul de transmitere a acestei afecțiuni este neregulat dominant autozomal. În angiomatoza encefalotrigeminală au fost descrise anomalii cromozomiale. M. D. Haiward și B. D. Bower (69) evidențiază o trizomie 22, T. Y. Dent și colab. (40) constată un cromozom Y complementar și, în sfîrșit, K. Pätau și colab. (105) descriu translocarea inconstantă a unui segment cromozomial pe cromozomii din grupa D.

II. BOLILE NEUROLOGICE PROPRIU-ZISE CU DETERMINISM GENETIC

A. BOLILE MIELINEI

În general se face distincția între două tipuri principale de demielinizare: demielinizarea secundară și demielinizarea primară. Demielinizarea secundară (123) se caracterizează prin degenerarea concomitentă a prelungirii cilindraxile și a tecii de mielină care o înconjoară. În demielinizarea primară, teaca de mielină este afectată în mod specific, în timp ce prelungirea axonică rămîne mai mult sau mai puțin indemnă. Acest ultim tip de demielinizare definește leziunea care a fost denumită de Charcot disociație mielinoaxonală (29). Demielinizarea secundară face parte integrantă din procesul de degenerescență walleriană și este consecința secțiunii, compresiunii unui trunchi nervos periferic sau a unei intoxicații neuronale (1). Demielinizarea primară reprezintă leziunea fundamentală care caracterizează în general cadrul larg și eterogen al bolilor mielinei sau bolilor demielinizante. Precizarea că termenul de demielinizare primară are un sens strict anatomic, definind în mod simplu absența colorației pentru mielină, și nici o semnificație patogenică, este îndeosebi necesară pentru a corecta definirea nosografică a bolilor demielinizante genetice.

Din grupa bolilor demielinizante genetice, după B. H. Landing și D. G. Freiman (85), C. M. Poser (110), fac parte leucodistrofiile și lipoidozele cerebrale. Afecțiuni ereditare și dismetabolice (142), în care defecte enzimatice determinate genetic ar produce degenerarea tecii de mielină, printr-un mecanism care interesează fie anabolismul, fie catabolismul substanțelor de constituție ale

acesteia, leucodistrofiile şi lipoidozele cerebrale se manifestă clinic printr-o simptomatologie condiţionată mai degrabă de extinderea procesului de demielinizare decît de natura acestuia. În ordinea apariţiei, principalele simptome clinice ale acestor afecţiuni sînt următoarele: deficit motor cu spasticitatea membrelor inferioare, ataxie, tulburări de vorbire, caracteriale, psihice. Deficitul motor se poate extinde şi la membrele superioare, realizînd tabloul unei veritabile tetraplegii. Se adaugă crize epileptice şi în unele cazuri un sindrom de hipertensiune intracraniană.

În raport de unele modificări histopatologice şi histochimice particulare, care însoţesc procesul de degenerescenţă mielinică, au fost descrise mai multe forme de leucodistrofii şi lipoidoze cerebrale. Leucodistrofiile cuprind: leucodistrofia metacromatică (Greenfield), leucodistrofia metacromatică cu celulele globoide (Krabbe), leucodistrofia ortocromatică şi/sau boala Pelizaeus-Merzbacher. Lipoidozele cerebrale sînt reprezentate prin: idioţia amaurotică (forma infantilă Tay-Sachs, forma infantilă tardivă Bielschowsky-Batten, forma juvenilă Spielmeyer şi forma adultă Kufs), boala Niemann-Pick şi boala Pfaundler-Hurler.

1. LEUCODISTROFIILE

— **Leucodistrofia metacromatică de tip Greenfield** apare în general la copii, în jurul vîrstei de 1—2 ani, şi se manifestă clinic printr-o paraplegie sau tetraplegie cu semne piramidale, la care se adaugă tulburări atactice, simptome de deteriorare mintală, afazie, cecitate, tulburări respiratorii şi de deglutiţie şi, în ultima instanţă, rigiditate decerebrată generalizată. Copilul moare în general la vîrsta de 3—6 ani (68). Din punct de vedere biologic, două teste urinare sînt utile pentru diagnostic: punerea în evidenţă a granulaţiilor metacromatice la examenul microscopic al sedimentelor şi analiza chimică directă a sulfatidelor, care se găsesc în urină într-o cantitate mare. Din punct de vedere anatomic, caracteristicile bolii sînt reprezentate prin asocierea leziunilor degenerative şi difuze ale substanţei albe cu acumularea abundentă a unui produs lipidic nesudanofil, mai ales în substanţa albă, dar şi în corpii neuronali, nervii periferici şi unele viscere (ficat, rinichi, vezica biliară). Acest produs lipidic, care dă o tentă metacromatică cu coloranţii bazici de anilină este o sulfatidă, identificată de H. Jatzkewitz (76). Tulburarea metabolică care antrenează supraîncărcarea specifică din leucodistrofia metacromatică de tip Greenfield pare să fie o diminuare în dezintegrarea normală a cerebrozidelor. Plecînd de aici, s-ar forma deci o cantitate excesivă de sulfatide. Dar mecanismul enzimatic al cerebrozidelor nu este încă cunoscut (135). Ca mod de transmitere predomină cel autozomal recesiv.

— **Leucodistrofia metacromatică cu celule globoide de tip Krabbe** debutează în copilărie sau adolescenţă printr-o tetraplegie lentă, progresivă, însoţită de o stare de demenţă şi atrofie optică. Din punct de vedere anatomic, boala se caracterizează prin alteraţii difuze ale mielinei, în care se constată prezenţa unor structuri multinucleate neobişnuite, formate din celule globulare, a căror compoziţie chimică este vecină cu aceea a glicolipidelor. Compoziţia chimicopatologică specifică a acestor celule nu a fost încă identificată (7). Însăşi natura celulelor menţionate este discutată. Absenţa fibrilelor gliale şi

prezența fosfatazei acide în aceste celule sugerează însă originea lor mezodermală (100). Boala se transmite după modul autozomal recesiv.

— **Leucodistrofia ortocromatică sudanofilă**, considerată de unii deosebită, iar de alții identică cu boala Pelizaeus-Merzbacher, ar reprezenta forma cronică a leucodistrofiei metacromatice (47, 101, 138). În orice caz, această afecțiune se transmite după un mod autozomal recesiv, diferit de modalitatea de transmitere a bolii Pelizaeus-Merzbacher.

— **Boala Pelizaeus-Merzbacher** este reprezentată prin trei tipuri clinice principale: tipul comun descris de F. Pelizaeus și L. Merzbacher, cu debut precoce și evoluție îndelungată; tipul Seitelberger, cu debut în copilărie și evoluție rapidă; tipul adult Lowenberg-Hill. Toate se caracterizează din punct de vedere anatomic prin arii întinse de demielinizare, cu conservarea relativă a integrității prelungirilor cilindraxile (124, 102) și prezența unor produși lipidici sudanofili — esteri de colesterol (1).

Genetic, familia descrisă de F. Pelizaeus (109) și L. Merzbacher (93), la care boala a debutat precoce și a avut o evoluție prelungită (peste 50 de ani), cuprinde 14 membri (12 bărbați și 2 femei), afectați în 4 generații. Pedigriul acestei familii relevă o transmitere X cromozomială recesivă, gena anormală găsindu-se la sexul feminin în stare heterozigotă. Tipul adult al acestei afecțiuni are o transmitere dominantă. Această leucodistrofie apare deci eterogenă din punct de vedere genetic, cu cel puțin două moduri de transmitere și cu o mare variabilitate interfamilială, dar cu asemănări intrafamiliale.

2. LIPOIDOZELE CEREBRALE

— **Idioția amaurotică** este o tezaurismoză, cu un material foarte probabil gangliozidic, a sistemului nervos central (41, 42). În raport de debutul bolii și unele simptome în principal oftalmologice au fost deosebite trei tipuri clinice de idioție amaurotică: forma infantilă (Tay-Sachs) cu „pată roșie maculară", forma juvenilă (Bielschowsky-Batten-Spielmeyer) cu corioretinită pigmentară și cu sau fără atrofie optică și forma adultă (Kufs), în care semnele oftalmologice pot să lipsească. În forma infantilă, pe lîngă simptomatologia clinică, ale cărei trăsături principale sînt indicate de denumirea bolii, se mai constată și importante modificări de laborator cu valoare diagnostică: leucocite vacuolizate (131), imidazolaminoacidurie (19) și deficit seric de fructozofosfataldolază (6). Determinarea acestei enzime servește și pentru identificarea biochimică a heterozigoților de boală Tay-Sachs. În forma juvenilă, starea de heterozigotism poate fi indicată în 1—4% din cazuri de prezența limfocitelor vacuolizate. În toate formele de idioție amaurotică, transmiterea bolii se face după modul autozomal recesiv, iar consanguinitatea părinților este frecventă.

— **Boala Niemann-Pieck** este o tezaurismoză cu fosfatide (sfingomielină). Transmiterea bolii este recesiv autozomală.

— În sfîrșit, **boala Pfaundler-Hurler** sau **gargoilismul** este o mucopolizaharoidoză, în care defectul genetic constă probabil din absența unei enzime care catabolizează un gangliozid. Gargoilismul este însă eterogen atît

din punct de vedere biochimic, cît şi genetic. Din punct de vedere genetic se poate distinge un grup de bolnavi care reprezintă aproximativ o treime din cazurile de boală, la care aceasta se transmite după modalitatea X cromozomială recesivă şi un alt grup, format din restul de bolnavi, la care gargoilismul are o transmitere autozomală recesivă. Ţinînd seama îndeosebi de datele de morfopatologie şi histochimie care caracterizează leucodistrofiile şi lipoidozele cerebrale, încadrarea acestora în grupa bolilor demielinizante este discutabilă. Leucodistrofia metacromatică şi idioţia amaurotică sînt dificil de cuprins în cadrul bolilor demielinizante primare, deoarece ele se caracterizează prin leziuni concomitente ale tecilor de mielină şi prelungirilor axonice, ca în demielinizările secundare. Pe de altă parte, în leucodistrofia metacromatică şi diferitele lipoidoze cerebrale, dezintegrarea mielinei nu duce la apariţia esterilor de colesterol, caracteristici atît leziunilor demielinizante primare, cît şi celor secundare. De aceea, C. W. M. Adams (1) consideră că în aceste afecţiuni, dezorganizarea mielinei este datorită mai degrabă unui proces de „dismielinizare“ (sinteză defectuoasă), decît unui proces de mielinoclazie (demielinizare primară sau secundară).

Spre deosebire de leucodistrofia metacromatică şi lipoidozele cerebrale, leucodistrofia sudanofilă, boala Pelizaeus-Merzbacher se caracterizează prin conservarea prelungirilor cilindraxile în ariile demielinizante şi prin prezenţa esterilor de colesterol în substanţa albă lezată. De aceea, aceste afecţiuni pot fi considerate ca veritabile boli demielinizante (1).

B. EREDOATAXIILE SAU DEGENERESCENŢELE SPINOCEREBELOASE

Fac parte, împreună cu bolile genetice extrapiramidale, piramidale şi neuromusculare, pe care le vom trata mai departe, din grupa mare a eredopatiilor degenerative abiotrofice. Deoarece, pînă în zilele noastre, în majoritatea bolilor din grupa menţionată nu au fost încă evidenţiate modificări semnificative ale vreunor substanţe enzimatice sau neenzimatice, care să ne explice patogenia acestor afecţiuni, ele sînt deocamdată atribuite unui mecanism nespecific abiotrofic. Acest mecanism condiţionează dezvoltarea lentă şi de lungă durată a unor procese degenerative şi atrofiante, care interesează corpii neuronali şi prelungirile lor şi care duc, în ultimă instanţă, la înlocuirea substanţei nervoase nobile printr-un ţesut de proliferare nevroglială. În eredoataxii, mecanismul abiotrofic produce leziuni atrofice şi degenerative ale căilor sensibilităţii proprioceptive (fasciculele Goll, Burdach şi fasciculele spinocerebeloase), ale fasciculelor piramidale şi ale celulelor nervoase din scoarţa cerebelului. Acest substrat anatomic îşi găseşte corespondentul în clinică printr-o simptomatologie variată şi complexă, dominată de ataxia cerebeloasă.

În grupa mare a eredoataxiilor au fost descrise peste 20 de afecţiuni sau tipuri morbide genetice, nu totdeauna suficient de bine individualizate: eredoataxia spinală sau boala Friedreich, eredoataxia cerebeloasă sau boala Pierre-Marie, distazia areflexică ereditară Roussy-Lévy, eredoataxia cu hipogonadism, cu degenerarea retinei şi eunucoidism, cu retinită pigmentară, eredoataxia cu transmitere X cromozomială recesivă, atrofiile cerebeloase, sindromul Mari-

nescu-Sjögren, sindromul Louis-Bar, eredopatia atactică polinevritiformă sau boala Refsum, sindromul Bassen-Kornzweig sau abetalipoproteinemia, boala Kuru.

Adîncirea cercetărilor de genetică, în decursul anilor, a impus, însă, de pe o poziție rațională, revizuirea individualizării acestor variate tipuri de eredoataxii, demonstrînd fie eterogenitatea unor forme clinice, considerate la început unitare, fie, dimpotrivă, unicitatea altor forme, inițial deosebite.

a) N. Friedreich (59) a descris mai întîi, în 1863, **ataxia ereditară cu transmitere autozomală recesivă,** pentru ca, după 3 decenii Pierre-Marie (88) să separe de aceasta *eredoataxia cerebeloasă,* care se deosebește de prima în special prin modul de transmitere autozomal dominant. Dacă aplicarea criteriului genetic nu întîmpină nici o dificultate în separarea bolii Friedreich, de boala Pierre-Marie, individualizarea genetică a celorlalte tipuri de eredoataxii, descrise după aceea, nu este totdeauna ușoară. În unele forme de eredoataxie nu s-a putut încă stabili dacă este vorba de un tip genetic deja cunoscut sau este un tip genetic nou, de sine stătător, care are la bază o altă genă. Astfel, ataxia cerebeloasă cu cataractă și oligofrenie, izolată de G. Marinescu, S. Drăgănescu și D. Vasiliu (89) și confirmată de T. Sjögren (129), poate apărea din punct de vedere genetic ca un tip nou, de sine stătător, deși are același mod de transmitere (recesiv autozomal) cu boala Friedreich, tip genetic mai înainte individualizat, de care se deosebește, în fond, numai prin prezența cataractei. De asemenea, combinația dintre boala Friedreich și degenerescența pigmentară a retinei justifică opinia unei manifestări fenotipice particulare ale uneia și aceleiași gene. Cît despre distazia areflexică ereditară Roussy-Lévy, studiile catamnestice, care indică o mare asemănare clinică cu boala Friedreich, susțin ipoteza înrudirii genetice a acestora prin alelia genelor care determină boala Friedreich, respectiv distazia areflexică Roussy-Lévy.

În cele mai importante și bine individualizate boli, care evoluează cu ataxie, boala Friedreich și boala Pierre-Marie, ca și în alte forme de eredoataxii, defectul metabolic genetic nu se cunoaște încă. Lăsînd de o parte eredopatia atactică polinevritiformă sau boala Refsum, în care au fost evidențiate unele tulburări metabolice, deocamdată insuficient precizate, singura eredoataxie cu tulburări metabolice cert demonstrate este sindromul Bassen-Kornzweig sau abetalipoproteinemia.

b) **Sindromul Bassen-Kornzweig** sau **abetalipoproteinemia** debutează în primul an de viață, cu steatoree. Apar apoi fenomene atactice, cu nesiguranță în mers și în mișcările fine ale membrelor superioare, tulburări de sensibilitate profundă în extremitățile distale ale membrelor inferioare, la care se mai pot adăuga degenerarea retinei și anomalii ale coloanei vertebrale. Biochimic se constată o scădere a colesterolului seric și a β-lipoproteinelor, iar examenul hematologic evidențiază modificări caracteristice ale hematiilor, care constau în excrescențe și neregularități de contur. Aceste hematii modificate au fost numite acantocite, de unde termenul acantocitoză, uneori utilizat pentru denumirea bolii. Studiul genetic a arătat la părinți un important procent de consanguinitate, care concordă cu ipoteza că boala este determinată de o genă recesivă rară. H. B. Salt și colab. (119) sînt de părere că principala acțiune

a genei anormale, în stare heterozigotă, constă din incapacitatea ei de a forma lipoproteine. Pentru opinia menţionată pledează constatarea că, în această afecţiune, partea proteică a lipoproteinelor lipseşte sau că în orice caz ea şi-a pierdut funcţia de a se lega cu lipidele, adică specificitatea antigenică. Globulele roşii, la început normale, îşi modifică apoi structura membranei lor lipidice, ca urmare a conţinutului anormal al plasmei şi iau o formă neregulată, caracteristică.

c) **Eredopatia atactică polinevritiformă** sau **boala Refsum** este o afecţiune rară (în jur de 40 de cazuri publicate în literatură), caracterizată prin simptome de polinevrită cronică, care evoluează în puseuri, cu remisiuni ocazionale, ataxie cu semne cerebeloase, anomalii pupilare, surditate, ihtioză congenitală, retinită pigmentară atipică cu strîmtorarea concentrică a cîmpului vizual şi disociaţie albuminocitologică în lichidul cefalorahidian. Boala apare începînd din primul pînă în al IV-lea deceniu de viaţă. În boala Refsum, examinările biochimice au arătat un conţinut mediu ridicat de acizi graşi totali în sînge, iar în urină prezenţa grăsimilor neutre. Recent, aplicarea metodei cromatografiei gazoase la analiza chimică a lipidelor din urină, ficat, muşchi şi ţesutul gras al bolnavilor cu eredopatie atactică polinevritiformă, a permis demonstrarea unei acumulări de acid 3,7,15-tetrametilhexadecanoic (77). Sînt în general afectaţi mai mulţi membri dintr-o familie cu părinţi sănătoşi, ceea ce indică o transmitere legată de o genă recesivă rară. O uşoară creştere a cuprului seric, a ceruloplasminei, a acidului 3,7,11,15-tetrametilhexadecanoic pot să indice uneori starea de heterozigotism (99).

d) În sfîrşit, o ultimă afecţiune din grupa eredoataxiilor este **boala Kuru.** Este o afecţiune, descrisă pentru prima dată în 1957, la populaţia Fore, în partea de est a insulei Noua Guinee, care se manifestă clinic prin ataxie, mişcări involuntare şi printr-o evoluţie progresiv agravantă (62). Curba vîrstei de îmbolnăvire indică un vîrf în copilărie (ambele sexe fiind egal interesate) şi un al doilea vîrf în jurul vîrstei de 30 de ani (dar numai de cazurile feminine). Ipotezei genetice că boala s-ar datori unei gene autozomale care se comportă dominant în cazul sexului feminin şi recesiv în cazul sexului masculin (17) i se opun astăzi o serie de fapte care pledează împotriva eredităţii şi susţin intervenţia unor factori de mediu (virotici?) (26).

C. BOLILE EXTRAPIRAMIDALE

Bolile extrapiramidale cu determinism genetic sînt reprezentate prin: boala Parkinson, tremorul esenţial, coreea cronică Huntington, hemibalismul, spasmul de torsiune, boala Hallervorden Spatz, boala Fahr şi degenerescenţa hepatolenticulară.

a) **Boala Parkinson** este indiscutabil cea mai frecventă şi comună afecţiune extrapiramidală. Frecvenţa bolii în Suedia este de aproximativ 65/100 000 (21), iar în Statele Unite de 114/100 000 (83). Din studierea mai multor pedigriuri izolate, cu aproximativ 10 membri afectaţi în 3 sau 4 generaţii rezultă că transmiterea dominantă nu este rară, spre deosebire de celelalte modalităţi de transmitere ereditară. Transmiterea dominantă, cu manifestări fenotipice la aproximativ 25% din purtătorii genei patologice, poate oferi o explicaţie plauzibilă a formelor familiale de boală Parkinson, cu toate că debutul precoce

al bolii în unele familii sugerează eterogenitatea ei. Variabilitatea intrafamilială a bolii Parkinson este foarte mare, realizînd toate posibilitățile ei de manifestare fenotipică, de la forme ușoare de tremor pînă la tabloul clinic grav de „paralizie agitantă". Ca factori patogenici care pot influența felul, gradul și severitatea manifestărilor clinice trebuie să se aibă în vedere tulburările hormonale, intoxicațiile cronice, hipertensiunea arterială și ateroscleroza. Recent, s-a incriminat în mecanismul de producere a bolii Parkinson un defect în metabolismul catecolaminelor. Dioxifenilalanina, serotonina și norepinefrina sînt distribuite variat în diferite regiuni ale sistemului nervos central (18). Corpii striați, nucleul roșu și *locus niger*, care reprezintă sediile lezionale principale ale bolii Parkinson, conțin în condiții normale, numai dioxifenilalanină și aproape de loc norepinefrină. Rezultatele unor cercetări recente (10, 48), care demonstrează scăderea eliminării prin urină și reducerea concentrației dioxifenilalaninei în nucleii extrapiramidali, menționați mai înainte, în boala Parkinson, sugerează intervenția acestei substanțe în mecanismul de producere a afecțiunii. Producția de dioxifenilalanină sau a unui alt precursor de norepinefrină, la nivelul nucleilor extrapiramidali, în boala Parkinson, ar putea fi blocată, printr-un defect enzimatic încă necunoscut.

b) **Coreea cronică Huntington** este o afecțiune extrapiramidală, care suscită interesul atît prin frecvența sa, cît și prin numărul record de pedigriuri cu transmitere regulat dominantă. Descrisă încă din 1872, de G. Huntington (72), această boală afectează în mod regulat generații succesive, în cadrul cărora exemplul familiei Wells este clasic. Admițînd presupunerea că pentru manifestarea coreei cronice este necesară o anumită vîrstă, penetranța genei patologice este absolută, în timp ce expresivitatea ei este diferită. Boala prezintă o variabilitate atît intra-, cît și interfamilială. În coreea cronică, rata de mutație, determinată printr-o metodă indirectă, este de 5×10^{-6} (113).

c) **Degenerescența hepatolenticulară** îmbracă două forme principale de manifestare clinică: boala Wilson și pseudoscleroza Westphal-Strümpell. În ambele se intrică simptome neurologice de tip hipertonico-hiperchinetic cu manifestări hepatice și pigmentarea corneei (inelul Kaiser-Fleischer). Pseudoscleroza Westphal-Strümpell se deosebește de boala Wilson printr-un debut mai tardiv și prin întregirea tabloului clinic cu simptome cerebeloase și piramidale. Din punct de vedere anatomic, atît în una, cît și în cealaltă, se constată leziuni degenerative ale formațiunilor extrapiramidale, ciroză hepatică și depunere corneană de cupru. În pseudoscleroza Westphal-Strümpell, leziunile nervoase sînt mai extinse, interesînd în plus scoarța cerebrală și cerebeloasă. A. G. Bearn (12) apreciază, cu ajutorul formulei Dahlberg, frecvența degenerescenței hepatolenticulare în Statele Unite la 0,025/100 000, iar A. Kreindler (81) raportează, în țara noastră, o frecvență de 1/100 000, care nu este întrecută decît de valorile statistice de la 1,9—6,8/100 000 ale unor cercetători japonezi (5). Boala se transmite foarte probabil după modul autozomal recesiv. Apariția degenerescenței hepatolenticulare la copiii unor părinți sănătoși, care de multe ori sînt înrudiți, susține această modalitate de transmitere. Din punct de vedere biochimic, în degenerescența hepatolenticulară se constată importante modificări ale metabolismului cupric și proteic care atestă natura dismetabolică a acestei afecțiuni (143). Principalele modificări ale metabolismului cupric sînt următoarele: creșterea absorbției și consecutiv scăderea eli-

minării intestinale a cuprului, diminuarea cuprului seric total (în condiţii normale este fixat de ceruloplasmină), creşterea cuprului plasmatic (în degenerescenţa hepatolenticulară este insuficient fixat de proteine) şi augmentarea eliminării de cupru prin urină. Modificările metabolice arătate fac ca bilanţul cupric să fie excedentar (aproximativ 0,5 mg se fixează în organism). La aceasta se adaugă tulburări ale metabolismului proteic, caracterizate prin scăderea ceruloplasminei serice sau insuficienta capacitate a acestei substanţe de a lega cuprul şi eliminarea excesivă de aminoacizi prin urină. Deoarece natura tulburărilor metabolice primordiale este discutată, ele nu pot fi deocamdată cuprinse într-o concepţie patogenică unitară şi certă. În orice caz, scăderea cuprului seric total, a ceruloplasminei, precum şi aminoaciduria au fost semnalate şi la heterozigoţii purtători ai „genei wilsoniene" (39), dar se pare că singurul mijloc de a diferenţia heterozigoţii hipoceruloplasminici de subiecţii destinaţi să dezvolte boala clinică este puncţia-biopsie hepatică cu dozarea cantitativă a cuprului. La aceştia din urmă, cuprul hepatic ajunge la 250—2 000 mg/g ţesut uscat faţă de sub 100 mg/g, cît este valoarea lui normală (133).

D. BOLILE PIRAMIDALE

Din cadrul larg al bolilor ereditare care afectează sistemul piramidal fac parte paraliziile (paraplegiile) spastice spinale familiale de tip Strümpell-Lorrain şi sindromul Sjögren-Larsson.

a) **Paraliziile spastice spinale familiale** aparţin grupului mare al bolilor degenerative abiotrofice. Din punct de vedere anatomic, se constată degenerarea simetrică a fasciculelor piramidale. Se pare că, la început, leziunile anatomice sînt cantonate în măduva lombară, de unde se extind pînă la decusaţia bulbară a fasciculelor piramidale. Uneori mai sînt interesate fasciculul Goll şi fasciculele spinocerebeloase. Pe un prim plan, în simptomatologia clinică se situează spasticitatea membrelor inferioare, ca indiciu de suferinţă piramidală, faţă de manifestările cu mult mai rare şi mai estompate ale leziunilor fasciculului Goll şi fasciculelor spinocerebeloase.

Ordonarea genetică a paraliziilor spastice spinale familiale de tip Strümpell-Lorrain este deosebit de dificilă, deoarece în cadrul acestora au fost cuprinse, în mod arbitrar, o serie de paraplegii spastice, care de fapt aparţin fie leucodistrofiilor, fie encefalopatiilor infantile. Cu toate acestea s-au individualizat mai multe forme clinicogenetice de paralizii spastice familiale de tip Strümpell-Lorrain, în funcţie de transmiterea dominant autozomală, recesiv-autozomală şi recesiv-X-cromozomială.

— *Paralizia spastică spinală cu transmitere autozomală dominantă* reprezintă tipul genetic cel mai frecvent. Ca vîrstă de debut în cadrul acestuia, s-au descris cazuri la care semnele clinice au apărut o dată cu efectuarea primilor paşi, cît şi cazuri cu debut în al 6-lea deceniu de viaţă. De cele mai multe ori, instalarea insidioasă şi evoluţia lentă fac ca bolnavul să ne furnizeze informaţii eronate cu privire la momentul exact al debutului simptomatologiei clinice. Atunci cînd se examinează pedigriul cu mai multe generaţii, se constată atît apariţia mai timpurie a fenomenelor clinice (fenomenul de antepoziţie sau anticipaţie), cît şi agravarea acestora la generaţiile mai tinere

(fenomenul de progresiune). Din cele peste 80 de pedigriuri publicate pînă în 1966, care cuprind în jur de 500 de bolnavi (15), rezultă, pe de o parte, că afecţiunea este mai frecventă la bărbaţi decît la femei, iar pe de altă parte, că sexul feminin este mai uşor afectat decît sexul masculin.

— Apariţia paraliziei spastice spinale în numeroase cazuri sporadice şi la descendenţi din părinţi sănătoşi ne obligă să recunoaştem, alături de forma precedentă, o *formă cu transmitere autozomală recesivă*. În cadrul acesteia, în raport de vîrsta la care apar primele simptome clinice de boală, se descriu trei tipuri: infantil, juvenil şi adult.

— *În sfîrşit, paraplegia spastică spinală familială cu transmitere recesivă legată de cromozomul X* este o entitate morbidă insuficient de bine precizată din punct de vedere genetic, deoarece transmiterea dominantă cu o afectare preferenţială a sexului masculin apare de asemenea posibilă.

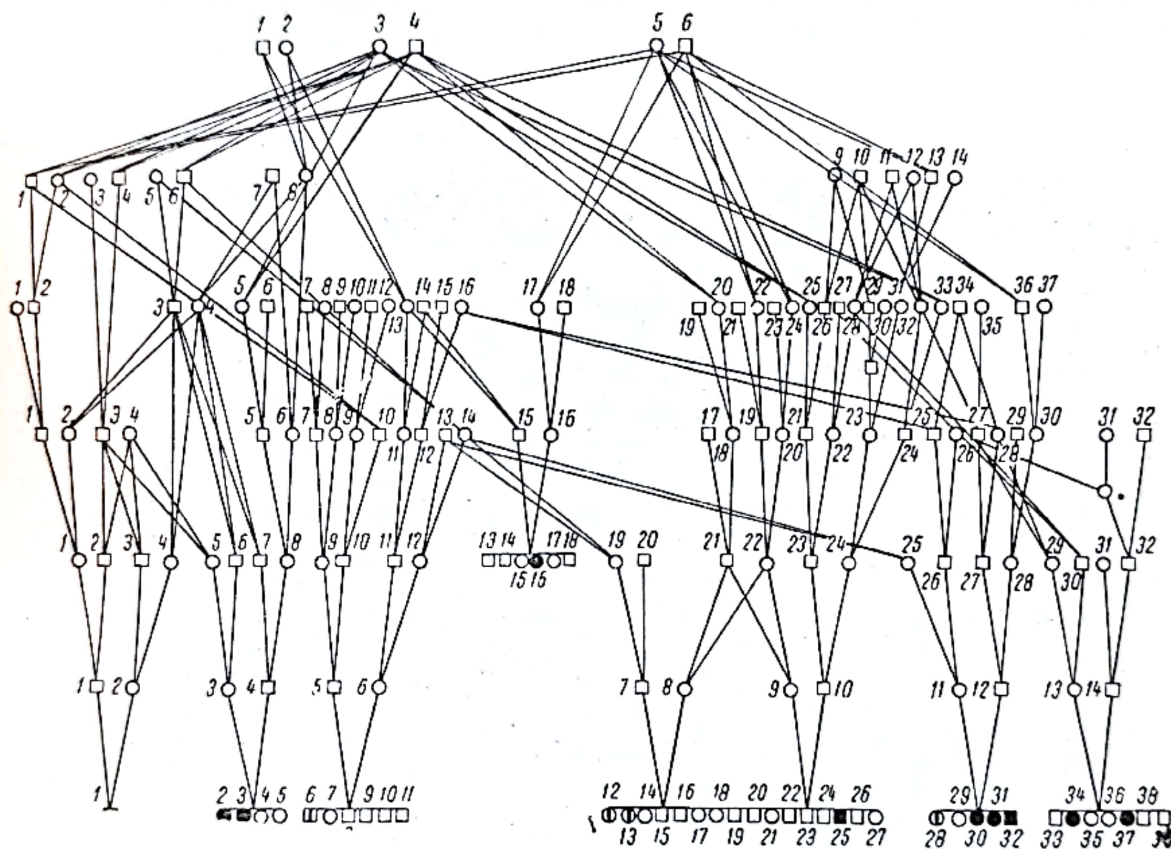


Fig. IX, 1.—Arbore genealogic cu sindrom Sjögren-Larsson din Haliwa—Carolina de Nord [*după C. J. Witkop şi F. Henry* (1963)].

În orice caz, formele anatomice şi clinicogenetice ale paraliziilor spastice spinale rămîn în general eterogene pînă la evidenţierea clarificatoare a defectelor de metabolism (141).

b) Deosebit de interesante sînt problemele genetice pe care le suscită sindromul Sjögren-Lársson. Acest sindrom, descris în 1957 în nordul provin-

ciei suedeze Västerbodden (130), se compune din paralizie cu spasticitate mai exprimată la membrele inferioare, ihtioză congenitală și oligofrenie. Rezultatele cercetărilor biochimice nu sînt concordante (151). La unii bolnavi s-au stabilit, prin metoda cromatografiei pe hîrtie, valori crescute ale unor aminoacizi în urină (arginină, acid glutamic, glicină, cistină), pe care însă alți bolnavi nu le prezentau. Tulburările metabolice menționate nu par specifice, iar mecanismul lor nu se cunoaște încă. Boala se transmite recesiv-autozomal. Înrudirea dintre părinți este frecventă. De un interes deosebit este constatarea unei frecvențe crescute a cazurilor de sindrom Sjögren-Larsson pe un teritoriu geografic restrîns (nordul Suediei, Carolina de Nord). C. J. Witkop și F. V. Henry (152) au descris 14 bolnavi dintr-o rezervație din Carolina de Nord; această rezervație numără 4 500—5 000 de persoane, care descind din strămoși indieni, negri și europeni, căsătoriți între ei. S-a putut urmări filiația cazurilor pînă în 1790 (fig. IX, 1). Examinările cromozomiale au evidențiat cam la fiecare al treilea caz de sindrom Sjögren-Larsson trisomia 21 sau idioția mongoloidă (118). Pentru lămurirea relației genetice dintre aceste afecțiuni au fost propuse două ipoteze: fie că gena patologică a sindromului Sjögren-Larsson se manifestă numai în stare heterozigotă cu trisomia 21, fie că aceeași genă localizată pe cromozomul 21 ar produce boala în condiții de doză dublă.

E. BOLILE NEUROMUSCULARE

Gruparea în comun a bolilor neuromusculare în general și a bolilor neuromusculare ereditare în special are la bază conceptul anatomic și funcțional de „unitate motorie". Cu alte cuvinte, bolile neuromusculare sînt afecțiuni ale unității motorii. O unitate motorie constă din: neuronul motor, numit periferic, al cărui corp celular (perikarion) se găsește în cornul ventral al măduvei spinării și al cărui axon pătrunde prin rădăcina ventrală a nervului rahidian în nervul periferic; joncțiunea neuromusculară; fibrele musculare inervate de neuronul motor periferic.

În raport de sediul major al leziunii, pe una din componentele unității motorii, bolile neuromusculare cu determinism genetic se pot împărți în: boli ale neuronului motor periferic, care produc atrofia prin denervare a mușchiului sau neuropatii; boli ale joncțiunii neuromusculare; boli ale mușchiului, care produc amiotrofia printr-un mecanism muscular primitiv sau miopatii. Din sistematizarea prezentată rezultă că în afară de bolile joncțiunii neuromusculare, care rareori comportă modificări atrofice ale mușchiului, manifestarea anatomoclinică majoră a celorlalte afecțiuni neuromusculare este amiotrofia, neuropatică sau secundară în bolile neuronului motor periferic și miopatică sau primară în bolile mușchiului. Se pare însă că mecanismele patogenetice ale acestor amiotrofii sînt deseori intricate și mult mai complicate decît rezultă ele dintr-o sistematizare numai didactic tranșantă. Asupra patogeniei atrofiilor musculare vom reveni mai departe, după prezentarea sistematică a principalelor boli neuromusculare cu determinare ereditară.

1. BOLILE NEURONULUI MOTOR PERIFERIC CU DETERMINARE EREDITARĂ. NEUROPATIILE GENETICE

În cadrul larg al bolilor neuromusculare, comunitatea patogenică de subgrup a neuropatiilor, bazată pe implicarea componentei nervoase a unității motorii, se exprimă printr-o serie de caractere generale clinice, electromiografice, biochimice, morfopatologice și morfochimice. În același cadru, aceste caractere generale sînt în mod obișnuit opuse și deosebite de acelea ale miopatiilor, în care este implicată componenta musculară a unității motorii. Din punct de vedere clinic, neuropatiile se manifestă prin amiotrofii cu distribuție simetrică și predominant distală în membre, însoțite de indurarea omogenă a mușchilor afectați, diminuarea forței musculare proporțională cu reducerea volumului muscular, crampe și fasciculații musculare, diminuarea sau abolirea reflexelor tendinoase, dar cu conservarea îndelungată a contracției idiomusculare și, în sfîrșit, deseori tulburări de sensibilitate și tulburări vasomotorii. De o mare valoare semiologică sînt fasciculațiile musculare, notate mai înainte, a căror apariție poate fi favorizată prin administrarea de prostigmină. La examenul electric se constată modificări cantitative și calitative ale excitabilității neuromusculare, iar la examenul electromiografic un traseu de tip neurogen. Unica modificare biochimică generală în neuropatii este creșterea creatinuriei. De fapt, creșterea creatinuriei a fost descrisă în miopatii și mult timp considerată ca o manifestare specifică a acestor afecțiuni. Astăzi se știe însă că ea este lipsită de specificitate, reflectînd în mod simplu reducerea cantității de țesut muscular activ, fiind prezentă atît în miopatii, cît și în neuropatii (27). Absența modificărilor serice ale enzimelor musculare (aldolaza, transaminaza, fosfocreatinkinaza), ca simptom negativ în bolile neuronului motor periferic, permite însă deosebirea biochimică dintre neuropatii, pe de o parte, și miopatii, pe de altă parte. Substratul morfopatologic al neuropatiilor se compune din modificări atrofice și nedegenerative, grupate, ale fibrelor musculare, care se izolează într-o încercuire de proliferare conjunctivă. La acestea se adaugă importante modificări citochimice, cu o recunoscută valoare diagnostică, dar cu o insuficientă și discutată semnificație patogenică. W. K. Engel (51) împarte modificările citochimice ale fibrelor musculare denervate în difuze și concentrice. Modificările citochimice difuze ale fibrelor musculare denervate se caracterizează prin creșterea activității enzimelor oxidative mitocondriale (se referă îndeosebi la DPNH-tetrazoliureductaza și menadionmediat — α glicerofosfatdehidrogenaza) și scăderea activității fosforilazei, a UDPG-glicogentransferazei cu diminuarea glicogenului PAS-colorabil. Activitatea miozin-ATP-azei rămîne în general nemodificată, dar rețeaua intermiofibrilară apare îngroșată. Dintre acestea, scăderea fosforilazei pare să fie cel mai sensibil indice al mușchiului neuropatic. Cea mai caracteristică modificare citochimică concentrică a denervării este așa-zisa fibră „target". Această modificare se compune din trei zone concentrice, în care se succed alterații citochimice diferite ale principalelor componente ultrastructurale din fibra musculară: miofibrile, mitocondrii, reticul sarcoplasmic și sarcoplasma apoasă. Nu insistăm în detaliu asupra acestor modificări, dar sublinierea valorii diagnostice a fibrelor „target" în neuropatii este necesară.

Intr-adevăr, ele au fost constatate în cel puțin 60% din aproape 200 de biopsii din neuropatii, dar ele nu au fost niciodată observate în mușchiul normal sau în mușchiul miopatic (51).

Dacă, într-o integrare corelată, caracterele generale, expuse mai înainte, sînt suficiente pentru a deosebi o neuropatie de o miopatie, ele nu sînt suficiente pentru a distinge o neuropatie dată și de o altă neuropatie. Individualizarea diferitelor forme de neuropatii se bazează în principal pe manifestări clinice și caractere genetice particulare. Particularitățile simptomatologice ale amiotrofiilor neurogene sînt la rîndul lor condiționate mai degrabă de sediul decît de natura leziunii anatomice pe neuronul motor periferic, a cărui suferință produce atrofia musculară. Ținînd seama de cele arătate, neuropatiile ereditare se divid în două grupe mari. Într-o primă grupă sînt cuprinse bolile pericarionului din cornul anterior al măduvei, iar în a doua grupă bolile rădăcinii rahidiene ventrale și ale nervului periferic.

a). BOLILE PERICARIONULUI DIN CORNUL ANTERIOR AL MĂDUVEI

Dintre acestea fac parte: atrofia musculară spinală infantilă, artrogripoza multiplă congenitală, atrofia musculară spinală juvenilă, atrofia musculară spinală a adultului și scleroza laterală amiotrofică. Din punct de vedere anatomic, toate se caracterizează prin leziuni degenerative ale celulelor radiculare mari din coarnele anterioare ale măduvei.

α) **Atrofia musculară spinală infantilă** sau **boala Werdnig-Hoffmann** debutează în mica copilărie, cel mai tîrziu pînă la vîrsta de 1 an, printr-un deficit motor însoțit de atrofii musculare ale membrelor inferioare, care se extind apoi la centura pelviană, trunchi, centura scapulară. Evoluția bolii este rapidă, ducînd la exitus pînă la vîrsta de 3—4 ani, prin tulburări respiratorii și de deglutiție, care favorizează suprainfecțiile bronhopulmonare (56% în primul an de viață, 80% înaintea celui de-al 4-lea an de viață) (24). Aceste tulburări se datoresc extinderii bulbare a leziunilor anatomice. Modificările histopatologice și histochimice enzimatice specifice au fost descrise în mușchii afectați. Specificitatea acestora constă nu atît în natura, cît în localizarea modificărilor citochimice, care caracterizează în general mușchiul denervat, aproape exclusiv pe tipul histometabolic I de fibre musculare (51). Asupra semnificației patogenice a acestor modificări vom reveni mai departe. În cel mai important studiu al bolii Werdnig-Hoffmann, pe 156 de cazuri, S. Brandt (24) apreciază frecvența afecțiunii în Danemarca la aproximativ 1/100 000. Pentru majoritatea cazurilor studiate, autorul citat constată că transmiterea bolii Werdnig-Hoffmann este recesiv-autozomală, consanguinitatea părinților acestor cazuri fiind de 6—8 ori mai mare decît la populația-martor. Pentru o parte din bolnavi, același autor admite o transmitere dominantă incompletă. Variabilitatea intrafamilială a bolii este mică, pe cînd cea interfamilială relativ mare. Afectarea cuplurilor gemelare univiteline apare concordantă.

β) **Artrogripoza multiplă congenitală** se manifestă clinic printr-un sindrom amiotrofic, cu implicarea mușchilor membrelor, abdominali, ai trunchiului, cefei și feței, asociat cu un sindrom osteoarticular (redori articulare

nedureroase, deformații articulare, luxații, fracturi). Modificările anatomice și electromiografice ale mușchilor afectați deosebesc forma neuropatică de forma miopatică și susțin cel puțin duplicitatea nosografică a artrogripozei multiple congenitale. Pe de altă parte, în numeroase cazuri, boala apare ca o manifestare sporadică, determinată mai degrabă de factori peristatici decît de factori genetici. Aceste cazuri sînt mai bine cuprinse în cadrul embriopatiilor sau fetopatiilor decît în acela al eredopatiilor. Cu toate acestea, în cel puțin 40, din peste 700 de cazuri publicate în literatură (108), artrogripoza multiplă congenitală are un caracter ereditar net, transmițîndu-se după modul autozomal dominant cu o penetranță ridicată.

γ) **Atrofia musculară spinală juvenilă** sau **pseudomiopatică (boala Kugelberg-Welander)** este considerată de unii, pe de o parte, ca forma juvenilă a bolii Werdnig-Hoffmann, iar, pe de altă parte, ca o entitate morbidă tranzițională spre atrofia musculară spinală a adultului (45). În raport cu vîrsta la care apar primele manifestări clinice, B. E. Becker (15) separă însă cazurile de boală Kugelberg-Welander în trei grupe: cu debut pînă la 5 ani, cu debut în al 2-lea deceniu de viață și cu debut tardiv, pînă la 60 de ani. Numai localizarea predominant proximală, la nivelul centurii pelviene și scapulare a deficitului motor și atrofiilor musculare conferă simptomatologiei clinice a acestei afecțiuni cu caracter pseudomiopatic. Celelalte manifestări simptomatice cît și modificări electrice, electromiografice, anatomice, semnează natura neuropatică a bolii Kugelberg-Welander. Investigațiile familiale ale lui E. Kugelberg și L. Welander (82), pe 12 bolnavi cu atrofie musculară spinală juvenilă, provenind din 6 familii, nu au pus în evidență transmiterea directă a bolii, dar au relevat o singură dată consanguinitatea. Astfel, cel puțin pentru o parte din cazuri, poate intra în discuție o transmitere ereditară recesivă (144). B. E. Becker (15) consideră însă că boala are o transmitere dominantă neregulată, în care gena patologică a^{+} se exprimă fenotipic numai cînd este acompaniată de alela a_{r}^{r} (prezentă la 10% din populație) și rămîne „mută" cînd este alături de alela a (prezentă la 90% din populație).

δ) **Atrofia musculară spinală a adultului** îmbracă tabloul clinic al unei poliomielite anterioare cu debut tardiv, cu amiotrofii predominant distale ale membrelor superioare și inferioare și cu evoluție progresivă, îndelungată. Atunci cînd atrofiile musculare interesează numai extremitățile distale ale membrelor superioare, se realizează sindromul Aran-Duchenne. Din punct de vedere genetic, în unele forme familiale de boală se constată o transmitere dominant autozomală.

ε) În sfîrșit, o ultimă afecțiune din grupa bolilor pericarionului din cornul anterior al măduvei, **scleroza laterală amiotrofică** sau **boala Charcot**. În forma sa completă și comună, scleroza laterală amiotrofică se caracterizează printr-un sindrom amiotrofic spinal identic cu acela al atrofiei musculare spinale a adultului, care atestă suferința corpilor neuronali din coarnele anterioare ale măduvei, un sindrom bulbar, care denotă implicarea pericarionilor motori ai nervilor bulbari, echivalenți coarnelor anterioare ale măduvei, și un sindrom piramidal, de tip paraplegic sau tetraplegic, care indică interesarea concomitentă a celulelor piramidale corticale și a fasciculelor piramidale. În esență, simptomatologia clinică a bolii exprimă afectarea neu-

ronului motor periferic şi a neuronului motor central. În muşchii afectaţi se constată histochimic implicarea selectivă, cînd a tipului histometabolic I, cînd a tipului histometabolic II de fibre musculare (51). Din punct de vedere etiologic se pot deosebi trei forme de scleroză laterală amiotrofică: sporadică, familială de scleroza laterală amiotrofică din insula Guam (57).

Pe 181 de probanţi extraşi din 185 000 de cazuri, W. F. Haberlandt (67) apreciază frecvenţa sclerozei laterale amiotrofice, în Westfalia, la 1/1 000 în raport cu celelalte afecţiuni neuropsihice şi la mai puţin de 1/100 000 faţă de populaţia generală. Majoritatea autorilor susţin originea exogenă a formei sporadice. În forma familială şi în scleroza laterală amiotrofică din insula Guam, rolul eredităţii pare de necontestat.

Frecvenţa cazurilor familiale de scleroză laterală amiotrofică este de aproximativ 12%. Cîteva particularităţi simptomatologice caracterizează forma familială de scleroză laterală amiotrofică: debutul în copilărie sau adolescenţă şi evoluţia îndelungată a bolii, cu apariţia tardivă a manifestărilor bulbare. Afecţiunea se transmite după modalitatea autozomală dominantă neregulată, cu o penetranţă mai redusă la femei decît la bărbaţi.

În insula Guam, din complexul insulelor Mariane din Oceanul Pacific, L. T. Kurland şi D. W. Mulder (83) constată o frecvenţă de aproximativ 100 de ori mai mare a sclerozei laterale amiotrofice faţă de celelalte regiuni, cu 40—50% cazuri familiale. În această insulă trăieşte o populaţie anumită Chamorros, care provine din femei microneziene, spanioli, mexicani şi filipinezi. Transmiterea bolii pare să fie recesiv autozomală. Boala este numită „*litico*“ de către băştinaşi şi clinic nu se deosebeşte de forma comună decît prin adăugarea în unele pedigriuri a complexului simptomatologic „parkinsonism-demenţă“.

b) BOLILE RĂDĂCINII RAHIDIENE VENTRALE ŞI ALE NERVULUI PERIFERIC

Cea de-a doua grupă a neuropatiilor ereditare este reprezentată prin bolile rădăcinii rahidiene ventrale şi ale nervului periferic. Din această grupă fac parte: atrofia musculară peronieră, polineuropatia interstiţială hipertrofică, neuropatia amiloidozică şi neuropatia porfirinică. Din punct de vedere anatomic, toate se caracterizează prin leziuni degenerative ale rădăcinilor rahidiene ventrale şi ale nervilor periferici.

α) **Atrofia musculară peronieră** sau **boala Charcot-Marie-Tooth** debutează în mod obişnuit între 10 şi 20 de ani şi se manifestă clinic prin atrofii musculare distale, cu limită superioară netă, în „jartieră“ la membrele inferioare, care sînt iniţial afectate, şi în „manşetă“ la membrele superioare, interesate ulterior. Uneori se adaugă discrete tulburări de sensibilitate, care indică implicarea concomitentă a cordoanelor medulare posterioare. Examenul biopsic al muşchilor, electromiografia şi determinarea vitezei de conducere prin nerv constituie metode importante pentru diagnostic. La examenul anatomic al muşchilor afectaţi, alături de modificările atrofice prin denervare, apar fibre musculare cu leziuni degenerative miopatice. Concomitenţa acestor două tipuri de leziune musculară este invocată în sprijinul naturii şi în acelaşi timp neuropatice şi miopatice a bolii (51). Scăderea vitezei de conducere prin nerv

sub 40—60 m/sec. ne oferă nu numai un element de diagnostic, ci și posibilitatea de a prevedea instalarea simptomelor clinice și de a descoperi purtătorii latenți ai genei patologice (46). Frecvența bolii Charcot-Marie-Tooth este de aproximativ 1/50 000. Boala influențează în mică măsură longevitatea și fertilitatea și se transmite după diferite modalități. W. Allan (3) admite trei moduri principale de transmiere a bolii Charcot-Marie-Tooth, care par să aibă fiecare un corespondent de exprimare fenotipică. Cel mai frecvent, gena patologică se transmite după modul dominant autozomal (55, 132). În majoritatea cazurilor, cu această modalitate de transmitere boala debutează tardiv și evoluează lent, cu o funcționalitate păstrată timp îndelungat. Forma de atrofie musculară peronieră cu transmitere autozomală recesivă evoluează cel mai sever, ducînd la invalidități grave în decurs de cîțiva ani, iar tipul cu transmitere X cromozomială recesivă ocupă o poziție intermediară între primele două (28).

β) **Polineuropatia interstițială hipertrofică** sau **boala Déjérine-Sottas** se caracterizează din punct de vedere clinic prin atrofii musculare identice cu acelea din boala Charcot-Marie-Tooth, la care se adaugă semne oculare (mioză, semnul Argyll-Robertson), ataxie cerebeloasă, nistagmus și cifoscolioză. Simptomatologia clinică exprimă o modificare anatomică de neuropatie interstițială hipertrofică cu caracter schwannian. Transmiterea bolii este dominant autozomală.

γ) **Neuropatia amiloidozică** reprezintă o manifestare comună a amiloidozei primare. Din punct de vedere clinic se exprimă printr-un sindrom de polinevrită mixtă, în care se intrică atrofii musculare cu tulburări de sensibilitate subiectivă și obiectivă, distribuite simetric și predominant distal în membre. În biopsia musculară, amiloidul se găsește în vasele sanguine, endonevru, perinevru, endomisiu și perimisiu, dar modificările histopatologice și citochimice ale fibrelor musculare nu diferă de tipul general al denervării. Mecanismul de formare a amiloidului rămîne însă obscur, cu toate că prezența concomitentă a hiperglobulinemiilor și paraproteinemiilor, la amiloidozici, ar indica precipitarea tisulară a unor proteine serice anormale. Numeroase cazuri de neuropatie amiloidozică au fost semnalate în Portugalia (4). Distribuția geografică a acestor cazuri face logică supoziția intervenției unui factor de mediu, dar apariția afecțiunii la mai mult de patru generații, cît și îmbolnăvirea în Statele Unite a unor imigranți din Portugalia pledează mai mult pentru un factor genetic. Transmiterea bolii apare dominantă (97).

δ) **Neuropatia porfirinică** însoțește forma acută intermitentă și forma mixtă sau variată a porfiriei hepatice, lipsind în porfiria eritropoietică (148). Dar, neuropatia porfirinică nu reprezintă singura manifestare neurologică a profiriei hepatice. La sindromul clinic al unei polinevrite sau poliradiculonevrite, para- sau tetraplegice, pe care-l realizează neuropatia porfirinică, se mai adaugă simptome bulbare (paralizie respiratorie, tulburări de deglutiție și de fonație), tulburări psihice (de tipul neurasteniei, isteriei, psihozei maniacodepresive, schizofreniei) și importante manifestări vegetative. Uneori se constituie tabloul complex al unei encefalomielopoliradiculonevrite. Atît în forma acută intermitentă, cît și în forma mixtă sau variată a porfiriei hepatice, simptomatologia neurologică se completează cu manifestări gastrointestinale, hipertensi-

une arterială, tahicardie. Fotosensibilitatea tegumentelor lipsesc de obicei în forma acută intermitentă, în timp ce ea poate fi prezentă în forma mixtă sau variată. Simptomatologia neurologică a porfiriei este determinată de leziuni neregulat diseminate, de obicei demielinizante, ale sistemului nervos periferic, central şi vegetativ. C. Rimington (114) consideră că şi alte manifestări viscerale ale porfiriei pot fi explicate prin leziunile sistemului nervos. Simptomele gastrointestinale s-ar datori unor leziuni ale fibrelor efectorii preganglionare, care inervează viscerele abdominale, iar hipertensiunea arterială şi tahicardia pot fi explicate prin leziunile sistemului regulator sinoaortic. Dacă întreaga simptomatologie a porfiriei poate fi atribuită modificărilor anatomice ale sistemului nervos, mecanismul prin care porfirinele acţionează asupra sistemului nervos nu este încă elucidat. Ipoteza toxicităţii acestor substanţe şi ipoteza ischemiei angiospastice nu sînt susţinute nici de probele experimentale, nici de faptele de observaţie clinică. Ipoteza unei alteraţii biochimice explică cel mai satisfăcător particularităţile semiologice ale porfiriei. Această leziune biochimică este, după C. Rimington (114), în relaţie cu producerea de acetilcolină: fie că ea afectează sistemul enzimatic responsabil de transferul acetil sau acetil-coenzimă A spre colină; că producerea de acetil-coenzimă A este diminuată prin reducerea aportului energetic reprezentat de adenozintrifosfat sau printr-o perturbare metabolică a pantotenului. Din punct de vedere genetic, cele două forme de porfirie hepatică, cu manifestări nervoase, apare independente, deşi ambele se transmit după modul autozomal dominant. J. Waldenström (145, 146) a arătat că în Suedia, boala se manifestă numai prin forma acută intermitentă, fără manifestări cutanate, iar G. Dean (37) a constatat că în Africa de Sud, porfiria familială îmbracă simptomatologia formei mixte sau variate în care pot fi prezente manifestări acute, cutanate sau mixte. G. Dean şi H. D. Barnes (38) cred că independenţa genetică a formelor suedeză şi sud-africană de porfirie au un suport biochimic. Autorii citaţi au observat la cazurile suedeze în curs de remisiune o creştere persistentă a porfobilinogenului urinar, în timp ce porfirinele din fecale scad la valori normale. Dimpotrivă, cazurile descrise în Africa de Sud prezintă în timpul remisiunilor o eliminare crescută de copro- şi protoporfirine prin urină.

2. BOLI ALE JONCŢIUNII NEUROMUSCULARE

a) MIASTENIA

Miastenia gravă, numită încă şi boala Erb-Goldflam, se caracterizează clinic printr-o fatigabilitate musculară accentuată, cu o exagerată şi rapidă epuizare a forţei musculare, după un efort fizic, datorită unui dezechilibru metabolic colinesterazic, la nivelul joncţiunii neuromusculare, sensibil la prostigmină. Din punct de vedere morfologic, în muşchi se constată limforagii, modificări distrofice (115) sau de denervare (58, 25). În etiopatogenia bolii, insuficient cunoscută, se susţine intervenţia unui mecanism autoimun legat de o disfuncţie timică. Rolul eredităţii în această afecţiune, presupus tocmai din motivul insuficientei cunoaşteri a etiopatogeniei ei, este foarte discutabil. Pe

mai multe mii de cazuri, P. E. Becker (13) constată abia de 9 ori apariţia miasteniei la fraţi şi conchide împotriva eredităţii bolii. Spre deosebire însă de miastenia gravă, cu debut la vîrsta adultă, miastenia infantilă şi juvenilă prezintă o istorie familială pozitivă, dar modul de transmitere este discutat.

3. BOLI MUSCULARE CU DETERMINISM GENETIC. MIOPATII GENETICE

a) DISTROFIILE MUSCULARE

O precizare terminologică este necesară. Pentru denumirea acestor afecţiuni se mai utilizează, printr-o consacrare tradiţională, îndeosebi în literatura de limbă franceză (86), termenul de miopatie. Deoarece utilizarea termenului de miopatie în sensul arătat implică eludarea semnificaţiei sale generale reale în favoarea unei accepţiuni arbitrar limitate, se tinde astăzi la înlocuirea lui cu denumiri mai adecvate, de distrofie musculară genetică sau distrofie musculară progresivă, folosite mai ales în literatura de limbă germană şi engleză. Cu această semnificaţie generală respectiv limitată, sînt utilizate în expunerea pe care o prezentăm denumirile de miopatie, respectiv distrofie musculară. În grupa distrofiilor genetice, W. K. Engel (51) după a cărui concepţie ne-am orientat în sistematizarea bolilor neuromusculare în general, include, pe lîngă formele comune cu modificări anatomice, histochimice şi biochimice nespecifice şi unele distrofii musculare rare, care se singularizează prin modificări specifice fie morfologice, fie biochimice.

α) **Distrofiile musculare comune.** Unele caractere generale clinice, electrice, electromiografice, biochimice, morfopatologice şi morfochimice justifică nosografia grupată a acestora, iar unele caractere particulare, în principal clinicogenetice, justifică individualizarea formelor separate. În general, distrofiile musculare comune se caracterizează din punct de vedere clinic prin atrofii musculare, simetrice şi bilaterale, predominant proximale, completate uneori cu pseudohipertrofii musculare predominant distale, însoţite de indurația muşchilor interesaţi şi dispariţia precoce a reflexelor idiomusculare, dar lipsite de modificări ale reflexelor tendinoase, tulburări de sensibilitate, fasciculaţii şi crampe musculare. Examenul electric evidenţiază numai modificări cantitative, iar examenul electromiografic înregistrează un traseu de tip miogen. Unele modificări biochimice, urinare şi serice, apar constant. Creşterea creatinuriei, care reflectă reducerea cantităţii de ţesut muscular activ este lipsită de specificitate, pentru că ea este prezentă în miopatii de altă natură şi în neuropatii (20). Deşi mai caracteristică, ridicarea valorilor serice ale aldolazei, transaminazelor şi fosfocreatinkinazei, probabil printr-un mecanism de permeabilizare a membranei fibrelor musculare, nu are nici ea o specificitate absolută (27). Într-adevăr, dacă valorile serice ale enzimelor musculare nu sînt modificate în neuropatii, ele apar însă crescute în alte miopatii şi îndeosebi în miozite. Neintegrate încă în contextul unei tulburări metabolice cu semnificaţie patogenică, ele îşi păstrează o reală valoare diagnostică şi rămîn cel mai bun semn biologic al distrofiilor genetice. De aceea, I. C. Dreyfus şi colab. (44) au propus dozarea enzimelor musculare, alături de măsurarea vitezei circulatorii, deseori modificată, ca teste pentru depistarea heterozigoţilor în



distrofiile musculare genetice. După autorii citaţi, asocierea acestor două metode permite evidenţierea unor modificări la mamele sigur transmiţătoare în peste 80% din cazurile studiate. Mai mult, aplicarea sistematică şi pe scară largă a metodelor arătate ar putea oferi soluţia unei importante, dar nerezolvate probleme din genetica distrofiilor musculare, aceea a proporţiei de noi mutaţii. Caracterele generale schiţate mai înainte sînt acordate la un substrat morfolezional caracterizat în special prin modificări atrofice şi degenerative dispersate ale fibrelor musculare, însoţite de o importantă hiperplazie conjunctivogrăsoasă de înlocuire. Aceasta din urmă răspunde de aspectul pseudohipertrofic al unora din muşchii interesaţi. Deosebit de interesante, dar deocamdată cu semnificaţie mai mult diagnostică decît patogenică, sînt modificările citochimice ale fibrelor musculare lezate. Activitatea miozin-ATP-azei este conservată. Ea scade difuz numai în fibrele musculare floculate sau lichefiate, în care şi celelalte reacţii citochimice dispar. Activitatea enzimelor oxidative mitocondriale şi a fosforilazei sarcoplasmice este focal crescută şi focal scăzută, iar reţeaua intermiofibrilară apare uşor îngroşată sau cu aspectul de „mîncat de molii". Constatările lui G. H. Bourne şi colab. (23, 66) asupra unei activităţi ATP-azice crescute în ţesutul conjunctiv al muşchiului distrofic nu au fost confirmate de alţi cercetători (51).

O imagine de ansamblu, fundamentată pe trăsături generale, chiar dacă ea ne oferă un cadru nosografic de grup, rămîne grosieră şi inoperantă în descifrarea formelor separate ale distrofiilor musculare, a căror individualizare trebuie bazată pe caractere particulare distructive în principal şi în acelaşi timp clinice şi genetice. Considerarea separată, fără corelare genetică a unei mari varietăţi de particularităţi clinice a dus la izolarea insuficient fundamentată, mai degrabă arbitrară, a unei varietăţi la fel de mari de distrofii musculare comune şi, prin aceasta, la mai multă confuzie decît claritate. Corelarea geneticei la aceste particularităţi a permis însă ordonarea, chiar dacă nu tranşantă, cel puţin comprehensibilă, a unui cadru nosografic larg cu un conţinut clinic aproape haotic. Aşadar, avînd în vedere deodată ambele criterii, clinic şi genetic, majoritatea autorilor (144, 14, 79, 96, 27, 86) disting următoarele distrofii musculare comune: distrofia musculară pseudohipertrofică, distrofia musculară facioscapulohumerală, distrofia musculară a centurilor, distrofia musculară oculară şi distrofia musculară tardivă distală.

— *Distrofia musculară pseudohipertrofică (boala Duchenne).* Atrofia interesează în primul rînd muşchii centurii pelviene. Pseudohipertrofia muşchilor gambei a fost considerată multă vreme ca un criteriu esenţial în diagnosticul acestei afecţiuni. Dar, pseudohipertrofia musculară, deşi frecventă, nu apare constant în distrofia Duchenne, după cum ea poate fi prezentă în alte tipuri de distrofie musculară progresivă (86). Se face în general distincţia între o formă cu debut precoce, în primii 3 ani de viaţă, cu evoluţie relativ rapidă, prognostic sumbru (tipul A ascendent al lui Becker) şi o formă cu debut între 12 şi 25 de ani, cu evoluţie în general mai lentă, prognostic relativ mai bun (tipul B ascendent al lui Becker). Se consideră că aceste două forme clinice corespund la două modalităţi diferite de transmitere a bolii: X cromozomială recesivă, pentru prima, şi autozomală recesivă pentru a doua. Această deosebire nu apare însă suficient de fundamentată. Oricum, cel mai comun, după

unii exclusiv, mod de transmitere a bolii Duchenne este transmiterea X cromozomială recesivă, asemănătoare cu aceea a hemofiliei, în care femeile aparent sănătoase transmit boala la descendenţii de sex masculin. După opinia lui P. E. Becker (13), care admite numai această modalitate de transmitere, cele două forme clinice ale bolii s-ar explica prin stadii diferite de mutaţie a uneia şi aceleaşi gene (alelie multiplă). D. Laplane (86) consideră însă că ereditatea X cromozomială nu epuizează integral modalitatea de transmitere a distrofiei musculare pseudohipertrofice. Într-adevăr, o primă mare dificultate se datoreşte numărului mare de cazuri sporadice în familii aparent sănătoase. Existenţa acestor cazuri este explicată fie prin caracterul recesiv al bolii, care face necesară conjuncţia a doi părinţi în aparenţă sănătoşi, dar purtători ai tarei, fie printr-o mutaţie în celula primordială a celui interesat. F. H. Tyler şi M. M. Wintrobe (140) apreciază frecvenţa acesteia la $5,4 \times 10^{-5}$, ceea ce reprezintă una dintre cele mai ridicate valori în genetica umană. Cea de-a doua mare dificultate se datoreşte existenţei cazurilor feminine. Susţinătorii transmiterii X cromozomiale consideră că aceste cazuri provin fie din unirea unui tată bolnav cu o femeie care transmite tara, fie din unirea unei mame cu acelaşi genotip cu un tată sănătos a cărui celulă fecundată ar fi suferit mutaţia patologică. Se pare însă că pentru explicarea acestor cazuri feminine de boală Duchenne trebuie să admitem mai degrabă modul de transmitere autozomal recesiv. Acest mod de transmitere, deşi mult mai rar decît ereditatea X cromozomială, este admis în aproximativ 10% din cazuri (86).

— *Distrofia musculară facioscapulohumerală (boala Landouzy-Déjérine)*. Boala interesează muşchii feţei şi centurii scapulare. Masculatura extrinsecă a globilor oculari este de obicei respectată, permiţînd deosebirea de distrofia oculară. Debutează mai tîrziu decît forma precedentă, între 7 şi 25 de ani (144) şi are o evoluţie lentă, relativ benignă, compatibilă cu o oarecare activitate. Cu o semnificaţie de principiu deosebit de interesantă pentru mecanismul de producere a distrofiilor musculare în general este constatarea citochimică a unei modificări relativ specifice a activităţii enzimelor oxidative mitocondriale, care interesează exclusiv fibrele musculare de tipul I, într-un caz de distrofie facioscapulohumerală (52). Din punct de vedere genetic, afecţiunea se manifestă egal la cele două sexe şi se transmite după un mod autozomal dominant. Acest mod de transmitere este foarte pregnant ilustrat de o familie descrisă de F. H. Tyler şi M. M. Wintrobe (140), al cărei arbore genealogic urcă pînă în secolul al XVII-lea şi în care afecţiunea a apărut la 6 generaţii; din 273 de copii ai distroficilor de sex masculin şi feminin, 130 au făcut boala şi 143 au rămas sănătoşi. Rezultă o relaţie de 1:1, ceea ce corespunde valorii mendeliene pentru o dominanţă simplă. Cu toate acestea există în literatură o observaţie unică, publicată de A. C. Stevenson (134), în care distrofia facioscapulohumerală s-a transmis după modul autozomal recesiv. Se susţine însă că acest autor ar fi putut neglija în studierea familiei descrise formele fruste de boală ca, de exemplu, acelea cu implicare facială exclusivă, de unde o falsă aparenţă de transmitere autozomală recesivă. Oricum, observaţia lui A. C. Stevenson (134) face îndoielnică unicitatea modului de transmitere a distrofiei facioscapulohumerale (86).

— *Distrofia musculară a centurilor (limb-gyrdle)* individualizată de J. H. Walton și F. J. Nattrass (147) formează un cadru nosografic destul de eterogen atît din punct de vedere clinic, cît și din punct de vedere genetic și de aceea cu o autonomie insuficient de fundamentată. În acest cadru sînt în general cuprinse distrofia musculară a centurii pelviene fără hipertrofii și distrofia centurii scapulare fără implicare facială. Transmiterea bolii s-ar face după modul autozomal recesiv, dar există de asemenea și numeroase cazuri sporadice.

— *Distrofia oculară,* descrisă de L. G. Kiloch și S. Nevin (78), considerată altă dată ca o neuropatie sub denumirea de oftalmoplegie musculară cronică progresivă, se deosebește de distrofia facioscapuloumerală, față de care prezintă similitudini în același timp clinice și genetice numai prin interesarea primitivă a musculaturii oculare extrinseci (86).

— *Distrofia musculară tardivă distală,* individualizată de S. Nevin (98) și L. Welander (149), se caracterizează clinic prin atrofii ale mușchilor mîinilor și picioarelor, iar din punct de vedere genetic printr-o transmitere autozomală dominantă și manifestări mai grave la homozigoți decît la heterozigoți.

β) **Distrofii musculare rare.** Deși mai puțin importante din punct de vedere practic, ele impun prin semnificația patogenică pe care o implică modificările specifice, biochimice sau morfochimice ce le caracterizează cel puțin schițarea lor enumerativă. După W. K. Engel (51), în cadrul acestor afecțiuni se pot deosebi de la început două grupe: într-o primă grupă se situează distrofiile musculare rare cu tulburări în metabolismul glicogenului, iar în a doua grupă acelea cu modificări morfochimice specifice:

— Din prima grupă a acestor afecțiuni fac parte: *distrofia musculară prin insuficiență de fosforilază,* tipul juvenil (90, 121, 106, 122, 92) și tipul adult (53), ambele caracterizate prin absența totală a fosforilazelor *(a* și *b)* din fibrele musculare, însoțită de o variabilă depunere de glicogen; *boala cardiomusculară cu stocaj de glicogen* în fibrele musculare, printr-o insuficiență de maltază acidă și *„limit" dextrinoza,* în care depozitarea glicogenului în fibrele musculare este consecința unei insuficiențe de amido-10-1,6-glucozidază (51).

— În grupa a doua a distrofiilor genetice rare sînt încadrate: boala *„central core"* (126), în care fibrele musculare apar centrate de o regiune (*„core"*) lipsită de activitățile enzimatice ale principalelor lor componente subcelulare; *miopatia „nemaline"* (49, 30, 128, 54), caracterizată prin apariția în fibrele musculare a unor *„rods"*-uri formate dintr-o proteină înrudită cu miozina (128, 54), fără activități enzimatice (51); *acantocitoza* prin insuficiență de β-lipoproteine serice, cu o deformare caracteristică a eritrocitelor din mușchi (*„thorny"*), adăugată la modificări citochimice musculare în care semnele distrofice se alătură celor de denervare.

b) BOLI MUSCULARE GENETICE CU MIOTONIE

Reprezintă a doua grupă mare a bolilor musculare cu determinism genetic, care cuprinde: distrofia miotonică, miotonia congenitală și paramiotonia congenitală, caracterizate în general prin asocierea unui sindrom miotonic la semnele de suferință musculară.

α) **Distrofia miotonică (miotonia atrofică sau Boala Steinert).** Simptomatologia principală a acestei afecţiuni se compune din atrofii musculare [muşchii mîinilor, antebraţelor, feţei, sternocleidomastoidienilor şi muşchilor inervaţi de nervii bulbari, rar interesaţi în distrofiile musculare (22)], miotonie şi cataractă. Cataracta este cvasiconstantă (apare în 97% din cazuri, după D. Klein (79) şi se constituie înaintea simptomelor neurologice. De aceea are importanţă deosebită în diagnosticul precoce al bolii, dar deseori se evidenţiază numai prin examenul biomicroscopic. La aceste simptome principale se mai adaugă, după o modalitate variabilă, tulburări endocrine şi îndeosebi hipoplazii genitale, care reduc gradul de fertilitate, crescînd numărul celibatarilor şi al căsătoriilor sterile la aproximativ 2/3 din cazuri, după von Verschuer (144), tulburări vegetative vasomotorii şi trofice osoase şi tulburări psihice. Pe lîngă leziunile distrofice ale fibrelor musculare, asemănătoare cu acelea din distrofiile musculare, cîteva particularităţi anatomice şi histochimice nespecifice, corpii citoplasmatici (49) şi relativ specifice, inelele striate (70), masele sarcoplasmatice (153) şi hiperplazia în şir a nucleilor sarcolemei (51) au fost descrise în această afecţiune. Din punct de vedere genetic, distrofia miotonică se transmite după modul autozomal dominant, cu o penetranţă aproape completă a genei patologice. Cercetările lui D. Klein (79) pe 182 de fratrii atinse dau o proporţie de 362 de copii bolnavi faţă de 355 normali (50,5%), ceea ce corespunde valorii mendeliene pentru o dominanţă simplă. Cu toate că boala interesează în mod egal ambele sexe, în transmiterea ei se poate constata predominanţa sexului masculin. După I. Bell (16), transmiterea se face prin tată în 52% din cazuri, prin mamă în 25,3% şi rămîne nedeterminată în 22,7% din cazuri. În cazuistica lui I. Bell (16) şi aceea a lui D. Klein (79), vîrsta medie de manifestare a bolii este de 24—25 de ani. Divizînd însă bolnavii în două categorii, generaţia parentală şi generaţia filială, D. Klein (79) constată că vîrsta medie în generaţia parentală este de 50,5 ani, iar aceea a generaţiei filiale de 27,4 ani. Această constatare pune în discuţie legea antepoziţiei (anticipaţiei). Antepoziţia vîrstei de manifestare este considerată de unii ca o eroare statistică datorită selecţiei materialului, boala implicînd sterilitate. Pentru ca să se poată transmite la descendenţi, trebuie să apară tardiv la parentali, iar descendenţii îmbolnăviţi la o vîrstă tînără rămîn fără copii, dar după alţii anticipaţia reprezintă un fenomen biologic real (79). D. Klein (79) apreciază frecvenţa distrofiei miotonice în Elveţia la 4,9 bolnavi la 100 000 de locuitori, iar rata de mutaţie la $1,6 \times 10^{-5}$.

β) **Miotonia congenitală (Miotonia hipertrofică** sau **boala Thomsen).** Sindromul miotonic care reprezintă o caracteristică clinică a bolii Thomsen nu mai justifică astăzi apropierea nosografică a acestei afecţiuni de distrofia miotonică (boala Steinert). Pe de altă parte, miotonia ca sindrom poate apărea în afecţiuni cu totul deosebite de miotoniile-boală (22), iar pe de altă parte, făcînd abstracţie de sindromul miotonic, boala Thomsen se deosebeşte de boala Steinert atît din punct de vedere clinic şi anatomic, cît şi din punct de vedere genetic. Într-adevăr, boala Thomsen se manifestă clinic prin hipertrofii musculare neînsoţite de cataractă şi tulburări endocrine (86), anatomic prin hipertrofie simplă, fără modificări degenerative ale fibrelor musculare, dar cu apariţia „agregatelor mitocondriale", ca în paraliziile periodice ere-

ditare (51), iar genetic, chiar dacă ea se transmite după modul autozomal dominant, în familia lui Thomsen, boala a apărut la 64 de persoane în 7 generații (144); familiile de thomsenieni nu au dat niciodată naștere decît la thomsenieni, iar familiile cu boala Steinert nu au dat niciodată naștere decît la bolnavi cu această afecțiune (86).

γ) Prezența sindromului miotonic în unele cazuri de adinamie episodică ereditară — **paramiotonia congenitală** sau **boala von Eulenburg** — sugerează mai degrabă înrudirea nosografică a bolii Thomsen cu paraliziile periodice ereditare decît cu boala Steinert (61). În același sens pledează și constatarea anatomică menționată a „agregatelor mitocondriale".

c) PARALIZIILE PERIODICE EREDITARE

Din cadrul mare al miopatiilor genetice mai fac parte paraliziile periodice ereditare. Se caracterizează din punct de vedere clinic prin crize de paralizie flască, spontan rezolutive, dar recidivante, de o durată variabilă (1 oră — 3 săptămîni), însoțite de diminuarea sau abolirea reflexelor tendinoase, dar fără modificarea conștiinței, fără tulburări de sensibilitate, fără pierderea controlului sfincterian și prin absența oricăror simptome subiective și obiective în intervalele intercritice. Cel puțin trei afecțiuni deosebite se manifestă printr-o asemenea simptomatologie clinică:

α) **Paralizia periodică familială hipokaliemică,** descrisă de C. Westphal (150), în care crizele paralitice se însoțesc de scăderea potasiului seric (2), pot fi provocate prin administrarea de glucoză, glucoză plus insulină, DOCA, epinefrină, ACTH (2, 73), substanțe cu acțiune cunoscută în coborîrea potasiului seric, și pot fi vindecate cu clorură de potasiu.

β) **Paralizia periodică normokaliemică,** sensibilă la potasiu, descrisă de D. C. Poskanzer și D. N. S. Kerr (111), în care manifestările paralitice critice nu sînt însoțite de modificări ale potasiului seric, pot fi produse prin administrarea sărurilor de potasiu și vindecate prin administrarea de clorură de sodiu, 9-α-fluorohidrocortizon și acetazolamidă.

γ) **Adinamia episodică ereditară (hiperkaliemică),** individualizată de I. Gamstorp (60), ale cărei crize de paralizie se asociază cu creșterea potasiului seric, putînd fi declanșate prin sărurile de potasiu și vindecate cu gluconat de calciu.

Modificările potasiului seric din paralizia periodică familială hipokaliemică și adinamia episodică ereditară hiperkaliemică, răspunzătoare de crizele paralitice, au fost atribuite fie unei erori metabolice a substanțelor hidrocarbonate (91, 43, 103, 117, 120), fie unor tulburări endocrine: tireotoxicoză (125), hiperaldosteronism (31). În paralizia periodică familială hipokaliemică și adinamia episodică ereditară, ca și în paramiotonia congenitală au fost descrise, din punct de vedere anatomic, în fibrele musculare, așa-numitele „vacuole centrale" glicogen-PAS pozitive, interesînd într-o observație unică numai tipul histometabolic I (51), considerate de G. M. Shy și colab. (127) ca mase moleculare subpolimerizate anionice și nedifuzabile de glicogen, care ar cauza un influx de apă și electroliți în interiorul mușchiului, și așa-numi-

tele „agregate mitocondriale" (50) limitate exclusiv la tipul II de fibre musculare. Din punct de vedere genetic, paralizia periodică familială hipokaliemică se transmite după modul autozomal dominant (63, 56, 64) cu o penetranță ridicată a genei patologice la sexul masculin și redusă le sexul feminin [12:1 în cazuistica lui Sagild (116)]. Celelalte tipuri de paralizie periodică ereditară se transmit după modul autozomal dominant cu penetranță egală la cele două sexe (61).

4. MECANISMUL PATOGENIC AL BOLILOR NEUROMUSCULARE GENETICE

Prezentarea analitică a pricipalelor neuropatii și miopatii cu determinare genetică trebuie întregită cu expunerea unei concepții patogenice sintetice, fundamentată pe constatările histo- și citochimice enzimatice, care să justifice comunitatea nosografică de grup a bolilor neuromusculare ereditare ca afecțiuni ale unității motorii. În sensul arătat vom prezenta cea mai recentă ipoteză patogenică, așa cum a fost concepută de W. K. Engel (51) (fig. IX, 2).

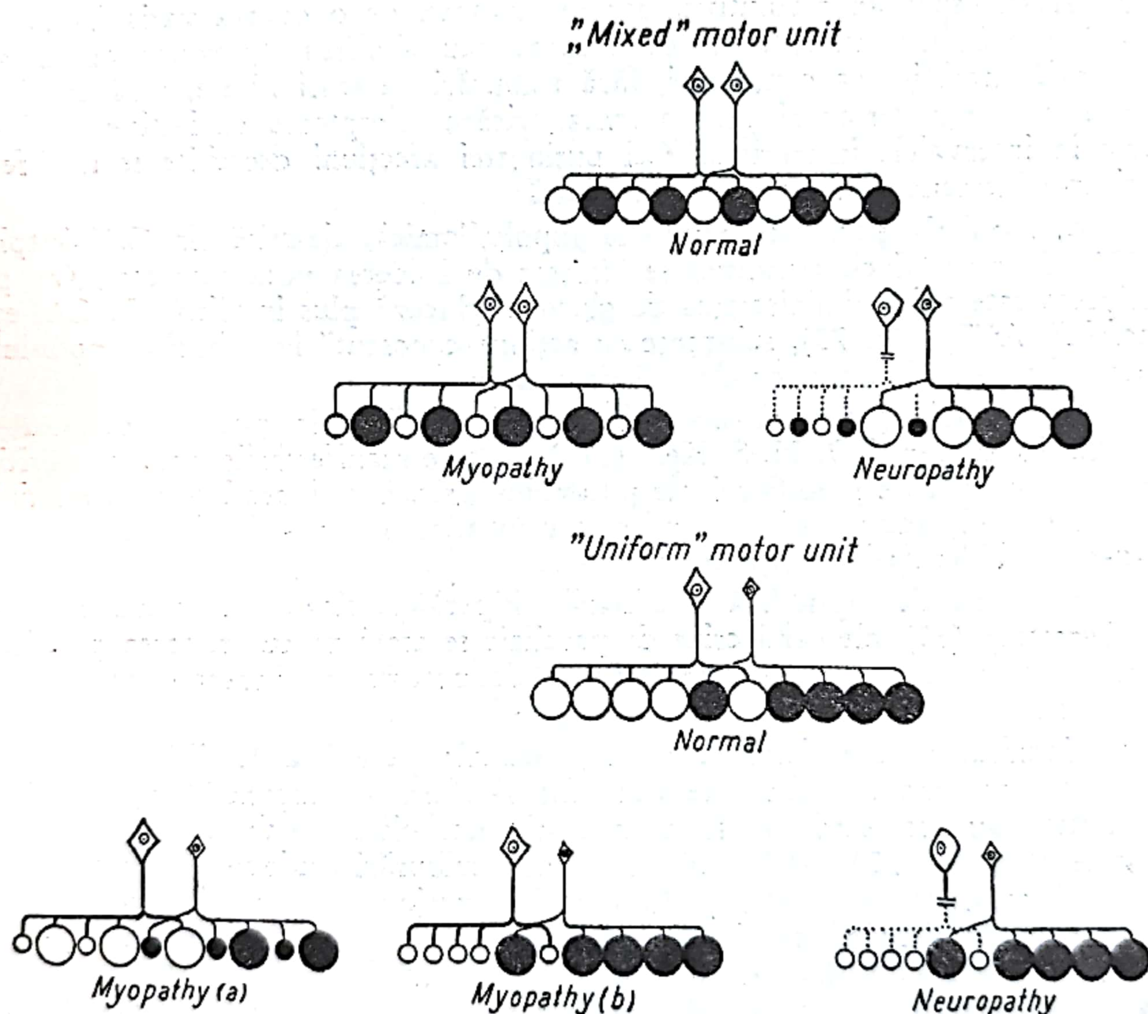


Fig. IX, 2. — Compoziția ipotetică a unei unități motorii și reacțiile patologice posibile. Fibrele clare și întunecate reprezintă tipurile histometabolice I și II. Fibrele mici sînt patologice (miopatice sau neuropatice) [*după* W. K. Engel (1965)].

Premisa fundamentală a acestei ipoteze este integrarea metabolică a unităţilor motorii. Din acest punct de vedere, într-o unitate motorie normală, sînt posibile două aranjamente: într-un prim aranjament, fiecare celulă nervoasă inervează mai multe tipuri histochimice de fibre musculare, formînd o „unitate mixtă", iar într-un al doilea aranjament, fiecare celulă nervoasă inervează fibre musculare de un singur tip histochimic, constituind o „unitate uniformă". La om este posibilă existenţa ambelor tipuri de unităţi motorii, dar W. K. Engel (51) înclină să accepte ipoteza unităţii uniforme. Pornind de la această premisă se poate concepe mecanismul patogenic al miopatiilor şi neuropatiilor.

În miopatii, factorii care determină implicarea selectivă a fibrelor musculare dispersate nu sînt cunoscuţi. În unele cazuri, ea poate fi explicată prin diferenţe metabolice dintre fibre, care determină interesarea lor preferenţială. Un asemenea mecanism presupune însă o unitate motorie mixtă, pentru că într-o unitate motorie uniformă, el ar produce o imagine lezională grupată şi nu dispersată, care nu ar putea fi deosebită de aceea produsă în neuropatii. În alte cazuri, interesarea selectivă a fibrelor musculare nu poate fi raportată de deosebirile metabolice dintre acestea. În asemenea cazuri, imaginea dispersată a leziunii musculare poate apărea atît în tipul mixt, cît şi în tipul uniform de unitate motorie.

În neuropatii, admiţînd ipoteza unităţii motorii uniforme, trebuie să admitem în acelaşi timp că influenţe specifice ale neuronilor motorii pot determina diferenţierea metabolică dintre fibrele musculare, în condiţii normale, iar în condiţiile muşchiului denervat, implicarea selectivă a unui tip histochimic anumit de fibre musculare, în acelaşi timp cu implicarea selectivă a unui tip metabolic distinct de neuron motor. Mai mult, dacă neuronii motori determină uniformitatea fibrelor musculare, o influenţă neurogenă fundamentală poate interveni în orice „miopatie", în care un tip histochimic definit de fibre musculare este afectat preferenţial.

III. BOLI NEUROLOGICE CU EREDITATE INCERTĂ

Vom exemplifica o ultimă grupă de afecţiuni al sistemului nervos, a căror determinare genetică este incertă prin scleroza în plăci şi epilepsie.

1. SCLEROZA ÎN PLĂCI (SCLEROZA MULTIPLĂ SAU MULTILOCULARĂ)

Este una dintre cele mai frecvente boli neurologice. Afecţiune deosebit de interesantă, scleroza în plăci se manifestă clinic printr-o simptomatologie polimorfă, care poate imita orice altă boală a sistemului nervos central, dar în care se realizează de obicei asocierea sindroamelor piramidal, cerebelos şi vestibular (paraplegie spastică, tremurătură intenţională, nistagmus). În evoluţia cronică, intermitentă a bolii, puseuri de agravare alternează, după o modalitate capricioasă şi imprevizibilă, cu perioade de remisiune pînă la aparenţa unei vindecări aproape totale. Din punct de vedere anatomic, scleroza în plăci se caracterizează prin lipsuri mielinice, răspîndite în substanţa albă din în-

treg sistemul nervos central, a căror cicatrizare nevroglială duce în ultimă instanţă la constituirea unor plăci de scleroză, de unde denumirea bolii. Etiopatogenia bolii nu este cunoscută. În absenţa probelor directe în favoarea unei determinări exogene, considerarea rolului eredităţii în scleroza multiplă apare firească. Din acest punct de vedere se confruntă pînă în zilele noastre două atitudini ipotetice, este adevărat prudente, dar suficient de tranşante: ipotezei determinării ereditare, dar fără excluderea intervenţiei concomitente a unor factori peristatici, susţinută de autorii care consideră că incidenţa familială a sclerozei în plăci este cu mult mai mare decît la restul populaţiei, i se opune ipoteza determinării exogene, susţinută de autorii care apreciază că incidenţa familială ridicată a bolii nu este reală, ci datorită unor factori metodologici. Într-o revizuire critică a materialului faptic adunat pînă în prezent, rolul eredităţii în scleroza multiplă este sintetizat de către G. Moya (94). Rezultatele cercetărilor care demonstrează că incidenţa sclerozei în plăci este mai ridicată în familiile cu bolnavi de scleroză în plăci decît la restul populaţiei snît foarte diferite, variind de la 2,6% în Danemarca (71), pînă la 11% în Scoţia (136) şi de aceea dificil de compart. Fără îndoială că divergenţa lor se datoreşte metodelor diferite şi uneori insuficient de adecvate prin care au fost culese. Numărul foarte redus al cazurilor familiale de scleroză în plăci cu autopsii multiple, singurele strict probante, nu ne permite deocamdată nici o deducţie. Numărul cazurilor acceptabile din punct de vedere clinic este de asemenea redus (în jur de 350), în raport cu miile de cazuri de scleroză în plăci existente. De aceea se poate considera că apariţia familială a bolii se datoreşte mai degrabă hazardului decît eredităţii. Studiul gemenilor monozigoţi nu demonstrează intervenţia factorului genetic (137, 87, 9). Lucrările lui Curtius (33, 34, 35), care au stat la baza cercetărilor genetice moderne, comportă prea puţine cazuri, iar argumentul „familiei nevropatice" invocat de autorul citat nu mai apare utilizabil în stadiul actual al cunoştinţelor despre etiologia şi transmiterea elementelor nevropatice. În sfîrşit, analiza genetică a cazurilor publicate nu indică nici o modalitate concludentă de transmitere ereditară a sclerozei în plăci.

În concluzie, din toate cele arătate mai înainte rezultă că astăzi nu se poate vorbi despre ereditatea sclerozei în plăci ci, cel mult despre o predispoziţie la boală, asemănătoare cu aceea din tuberculoză. Majoritatea cercetătorilor consideră că această predispoziţie favorizează intervenţia unor factori de mediu, încă insuficient cunoscuţi (infecţioşi, toxici, alimentari etc.), care ar produce leziunile sistemului nervos printr-un mecanism neuroalergic.

2. EPILEPSIA

În sfîrşit, o ultimă afecţiune cu ereditate discutată este epilepsia. Frecvenţa bolii este de aproximativ 3—4/1 000 (144). În general se face deosebirea clinică, electroencefalografică şi anatomică între epilepsia subcorticală şi epilepsia corticală. Epilepsia subcorticală, centrencefalică, fără substrat anatomic aparent (de unde denumirea de epilepsie genuină sau esenţială), se manifestă clinic prin crize de pierdere a cunoştinţei însoţite de convulsii tonicoclonice generalizate, iar electroencefalografic prin descărcări paroxistice bilaterale, sincrone şi sime-

trice. În epilepsia corticală, cu variate leziuni anatomice (epilepsia secundară) apar manifestări clinice critice localizate, jacksoniene (epilepsie parţială), de obicei fără pierderea cunoştinţei, al căror aspect (crize motorii, sensitive, senzoriale, psihice) este condiţionat de sediul leziunii anatomice şi descărcări electroencefalografice unilaterale, focalizate. Natura exogenă a epilepsiei corticale limitează rolul eredităţii la epilepsia subcorticală, centrencefalică, genuină. În cercetările familiale, rolul eredităţii în epilepsie apare mai puţin important. Oricum, o ereditate categorică în epilepsia genuină nu este demonstrată, cu toate rezultatele studierii acestei afecţiuni la gemeni (144).

În încheiere subliniem încă o dată că, în expunerea noastră, nu ne-am referit decît la cele mai importante şi interesante afecţiuni ale sistemului nervos, care implică, în determinarea lor, facorul ereditar. Această limitare de subiect ne-a fost impusă atît de specificitatea patologiei neurologice, cît mai ales de marea extindere şi profunzime a neurogeneticei în raport de celelalte specialităţi medicale. Subliniem de asemenea că dintr-o intenţie de eficienţă am preferat, în ordonarea şi dezvoltarea materialului, în locul unei prezentări generale exemplificate, o expunere sistematică raportată la grupe de boli sau boli separate, cu toată aparenţa enumerativă şi puţin atractivă a acesteia din urmă. Oricum, importanţa considerabilă a geneticei în patologia neurologică apare cu toată evidenţa. Chiar dacă neurogenetica nu ne indică astăzi modificări cromozomiale certe, chiar dacă unele tulburări metabolice evidenţiate în puţine boli ereditare ale sistemului nervos sînt încă insuficient elucidate, chiar dacă în majoritatea afecţiunilor neurologice genetice cunoaşterea eredităţii este deocamdată limitată la modalităţile de transmitere a acestora, aplicarea geneticei la patologia sistemului nervos a făcut posibilă ordonarea nosografică a unui material dispersat şi a deschis o perspectivă, în acelaşi timp etiopatogenică şi terapeutică, ale cărei rezultate, fără îndoială fructuoase, le vom datori viitorului.

BIBLIOGRAFIE

1. Adams C. W. M. — Neurohistochemistry, edit. C. W. M. Adams, Elsevier Publishing Company, Amsterdam-Londra-New York, 1965.
2. Aitken R. S., Allott E. N., Castleden L. S. M., Walker M. — *Clin. Sci.*, 1937, 3, 47.
3. Allan W. — *Arch. intern. Med.*, 1939, 63, 1 123.
4. Andrade C. — *Acta neuropath. (Berl.)*, 1963 (Suppl. 2, 3).
5. Arima M., Kamoshita S., Komiya H., Murokawa H. — *Paediat. Univ. (Tokio)*, 1964, 10, 5.
6. Aronson S. M., Aronson B. E., Volk B. W. — *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 1962, III, 664.
7. Austin S. H. — Brain Lipids and Lipoproteins and the Leucodystrophies, edit. J. Folch-Pi şi H. Bauer, Amsterdam, 1963.
8. Bagdasar D., Arseni C. — Traité de neurochirurgie, Ed. Acad. R.P.R., 1951.
9. Bammer H., Schaltenbrand G., Solcher H. — *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1960, 181, 261.
10. Barbeau A., Murphy G. F., Sourkes T. L. — *Science*, 1961, 133, 1 706.
11. Bassen F. A., Kornzweig A. L. — *Blood*, 1950, 5, 381.
12. Bearn A. G. — *Ann. hum. Genet.*, 1960, 24, 33.

13. B e c k e r P. E. — Dystrophia Musculorum Progressiva: Eine Genetische und Klinische Untersuchung der Muskeldystrophien, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1953.
14. B e c k e r P. E. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 148.
15. B e c k e r P. E. — Humangenetik, vol. V/1, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1966.
16. B e l l I. — The Treasury of Human Inheritance, Cambrige Univ. Press, Londra, 1943.
17. B e n n e t J. H. — *Amer. J. hum. Genet.*, 1959, 11, 169.
18. B e r t e r A., R o s e n g r e n E. — *Experientia*, 1959, 15, 10.
19. B e s s m a n S. P., B a l d w i n R. — *Science*, 1962, 135, 789.
20. B o d e c h t e l G. — Diagnostic différentiel des maladies neurologiques, Ed. G. Doin, Paris, 1965.
21. B o r m a n T. — Acta neurol. scand. (Suppl.), 1963, 4, 95.
22. B o s a n q u e t F. D., D a n i e l P. M., P a r r y H. B. — The Structure and Function of Muscle, vol. III, edit. G. H. Bourne, Academic Press, New York-Londra, 1960.
23. B o u r n e G. H., G o l a r z M. N. — *Nature (Lond.)*, 1959, 183, 1 741.
24. B r a n d t S. — *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)*, 1950, 63, 218.
25. B r o d y I. A., E n g e l W. K. — *Arch. Neurol. (Chic.)*, 1964, 11, 350.
26. B u r n e t F. M. — *Lancet*, 1965, I. 1 141.
27. C a m b i e r J. — *Rev. Prat.*, 1964, 14, 477.
28. C î m p e a n u E., M o r a r i u M. — *Neurologia (Buc.)*, 1969, 4, 313.
29. C h a r c o t J. M. — Lectures on the Diseases of the Nervous Sistem. English Transl., edit. G. Sigerson, New Sydenham Society, Londra, 1 877.
30. C o n e n P. E., M u r p h y E. G., D o n o h u e W. L. — *Canad med. Ass. J.*, 1963, 89, 983.
31. C o n n J. W., F a j a n s S. S., L o u i s L. H., S t r e e t e n D. H. P. — *Lancet*, 1957, 1, 802.
32. C r o w e F. W., S c h u l l, W. J., N e e l J. V. — A clinical, pathological and genetic study of multiple neurofibromatosis, Ed. Thomas, Springfield, 1957.
33. C u r t i u s F. — Multiple Sklerose und Erbanlage, Ed. G. Thieme, Leipzig, 1933.
34. C u r t i u s F., S p e e r H. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1937, 160, 226.
35. C u r t i u s F. — Handbuch der Nervenmedizin, Mohr und Staehelin, Ed. Springer, Berlin, 1939.
36. D a l i n g h a u s E. A. — *Z. ges. Neurol. Psychiat*, 1941, 100, 1.
37. D e a n G. — *Brit. med. J.*, 1953, 2, 1 291.
38. D e a n G., B a r n e s H. D. — *S. Afr. med. J.*, 1959, 33, 246.
39. D e n n y - B r o w n D. — *New Engl. J. Med.*, 1964, 270, 1 149.
40. D e n t T. J., E w a r d s H., D e l h a n t y O. D. A. — *Lancet*, 1963, II, 484.
41. D i e z e l P. B. — Cerebral Lipidoses, edit. S. N. Cumings, Oxford, 1957.
42. D i e z e l P. B. — Modern Scientific Aspects of Neurology, edit. S. N. Cumings, Oxford, 1960.
43. D o a k P. B., E y r e K. E. — *Bri . med. J.*, 1961, 2, 549.
44. D r e y f u s I. C., S c h a p i r a G., S c h a p i r a F. D e m o s J. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 149.
45. D u b o w i t z V. — *Brain*, 1964, 87, 707.
46. D y c k, P. J., L a m b e r t E. H., M u l d e r D. W. — *Neurology (Minneap.)*, 1963, 13, 1.
47. E d g a r G. W. F. — *Folia psychia . neerl.*, 1956, 59, 3.
48. E h r i n g e r H., H o r n y k i e w i c z O. — *Klin. Wschr.*, 1960, 36, 1 236.
49. E n g e l W. K. — *Neurology (Minneap.)*, 1962, 12, 778.
50. E n g e l W. K. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 46.
51. E n g e l W. K. — Neurohistochemistry, edit. C. W. M. Adams, Elsevier Publishing Company, Amsterdam-Londra-New York, 1965.
52. E n g e l W. K., K o s s m a n n R. I. — *Neurology (Minneap.)*, 1963, 13, 362.
53. E n g e l W. K., E y e r m a n E. L., W i l l i a m s H. E. — *New Engl. J. Med.*, 1963, 268, 135.
54. E n g e l W. K., W a n k o T., F e n i c h e l G. M. — *Arch. Neurol. (Chic.)*, 1964, 11, 22.
55. E n g l a n d A. C., D e n n y - B r o w n D. — *Arch. Neurol. Psychiat.*, 1952, 67, 1.
56. E s k e n a s y J. — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1968, 4, 269.
57. E s p i n o s a R. E., O k i h i r o M. M., M u l d e r D. W., S a y r e G. P. — *Neurology (Minneap.)*, 1962, 12, 1.

58. Fenichel G. M., Shy G. M. — *Arch. Neurol. (Chic.)*, 1963, 9, 237.
59. Friedreich N. — *Virchows Arch. path. Anat.*, 1863, 26, 391.
60. Gamstorp I. — *Acta Paediat.* (Suppl.), 1956, 108.
61. Gamstorp I. — *Rev. Prat.*, 1964, 14, 527.
62. Gajdusek D. C., Zigas V. — *New Engl. J. Med.*, 1957, 257, 974.
63. Gaupp R. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1940, 170, 108.
64. Gaupp R. Jr., Kalden O. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1942, 174, 194.
65. Glanville E. V. — Pathology of the Nervous System, edit. Minckler, Ed. Mc.Gran-Hill, 1968.
66. Golarz M. N., Bourne G. H., Richardson V. D. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1961, 9, 132.
67. Haberlandt W. F. — *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1959, 180, 55.
68. Hagberg B. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 131.
69. Hayward M. D., Bower B. D. — *Lancet*, 1960, II, 844.
70. Heidenheim M. — *Beitr. path. Anat.*, 1918, 64, 198.
71. Hyllested K. — Disseminated sclerosis in Denmark, Prevalence and geographic distribution, Ed. J. Jörgensen, Copenhaga, 1956.
72. Huntington G. — *Med. Surg. Reporter (Philad.)*, 1872, 26, 317.
73. Iantz H. — *Nervenarzt*, 1947, 18, 360.
74. Ionăşescu V., Roşianu C., Maria Drinca-Ionescu — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1967, 3, 165.
75. Ionăşescu V., Roşianu C., Maria Drinca-Ionescu — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1967, 5, 327.
76. Iatzkewitz H. — *Z. Physiol. Chem. (Hoppe-Seyler)*, 1958, 311, 279.
77. Kahlke W., Richterich R. — *Amer. J. Med.*, 1965, 39, 237.
78. Kiloch L. G., Nevin S. — *Brain*, 1951, 74, 115.
79. Klein D. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 150.
80. Koch G. — Humangenetik, vol. 1, edit. P. E. Becker, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1966.
81. Kreindler A., Ionăşescu V., Drinca-Ionescu M. — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1964, 9, 401.
82. Kugelberg E., Welander L. — *Arch. Neurol. (Chic.)*, 1956, 75, 500.
83. Kurland L. T., Mulder D. W. — *Neurology (Minneap.)*, 1955, 4, 355.
84. Kurland L. T., Darel R. W. — *Int. J. Neurol (Montevideo)*, 1961, 2, 11.
85. Landing B. H., Freiman D. G. — *Amer. J. Path.*, 1957, 33, 1.
86. Laplane D. — *Rev. Prat.*, 1964, 14, 557.
87. Makay R. P., Myrianthopoulos N. C. — Proceedings I Internat. Congress Neurol. Sciences, Pergamon Press, Londra, 1959.
88. Marie P. — *Sem. méd. (Paris)*, 1893, 13, 444.
89. Marinescu G., Drăgănescu S., Vasiliu D. — *Encéphale*, 1931, 26, 97.
90. McArdle B. — *Clin. Sci.*, 1951, 10, 13.
91. McGregor G. A., Shaper A. G. — *Brit. med. J.*, 1957, 1, 917.
92. Mellick R. S., Mahler R. F., Hughes B. B. — *Lancet*, 1962, 1, 1 045.
93. Merzbacher L. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1910, 3, 1.
94. Moya G. — *Acta neurol. belg.*, 1962, 62, 40.
95. Morariu M., Ţăranu Al. — *Stud. Cercet. Neurol.*, 1968, 6, 441.
96. Morton N. E., Chung C. S. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 153.
97. Munsat Th. L., Pousaint A. F. — *Neurology (Minneap.)*, 1962, 12, 413.
98. Nevin S. — *Quart. J. Med.*, 1936, 5, 51.
99. Nevin N. C., Cumings J. N., Mckeowin F. — *Brain*, 1967, II, 419.
100. Nelson E., Aurebeck G., Osterberg K., Berry J., Jabour S. T., Bornhofen J. — *J. Neuropath, exp. Neurol.*, 1963, 22, 414.
101. Norman R. M. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 133.
102. Norman R. M., Tingey A. H. — Sudanophil, leucodystrophy and Pelizaeus — Merzbacher, Brain Lipidis and Lipoproteins and the Leucodystrophies, edit. J. Folch-Pi, H. Bauer, Amsterdam, 1963.

103. Norris Jr. F. H. — *Neurology (Minneap.)*, 1962, 12, 208.
104. Okinaka S., Kumagai H., Ebashi S. — *Arch. Neurol.*, 1961, 4, 520.
105. Pätau K., Therman E., Smith D. W., Inhorn St. L., Picken B. F. — *Amer. J. hum. genet.*, 1961, 13, 287.
106. Pearson C. M., Rimer D. G., Mommaerts W. F. — *Amer. J. Med.*, 1961, 30, 502.
107. Pedersen B. — Sem. de Gen. hum. appliquée, Copenhaga, 1964.
108. Pendefunda Gh. — Raport la Consfătuirea: „Boli neuromusculare cu determinism genetic", București, 1968.
109. Pelizaeus F. — *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 1885, 16, 658.
110. Poser C. M. — Cerebral Sphingolipidoses, edit. S. M. Aronson și B. W. Volk, New York, 1962.
111. Poskanzer D. C., Kerr D. N. S. — *Amer. J. Med.*, 1961, 31, 328.
112. Pratt R. T. C. — The Genetics of Neurological Disorders, Oxford, 1967.
113. Reed T. E., Neel J. V. — *Amer. J. hum. genet.*, 1959, 11, 107.
114. Rimington C. — *Rev. Neurol.*, 1962, 107, 101.
115. Russell D. S. — *J. Path. Bact.*, 1953, 65, 279.
116. Sagild U. — Hereditary transient paralysis, Munksgaard, Copenhaga, 1959.
117. Sagild U. — *Acta med. scand.*, 1963, 173, 329.
118. Saldanha P. H., Bergak W. — *Acta Genet. (Basel)*, 1963, 13, 67.
119. Salt H. B., Wolff O. H., Lloyd J. K., Fosbrooke, Cameron A. H., Hubble D. V. — *Lancet*, 1960, I, 325.
120. Satoyoshi E., Suzuki Y., Alu T. — *Neurology (Minneap.)*, 1963, 12, 24.
121. Schmid R., Manler R. — *J. clin. Invest.*, 1959, 38, 2 044.
122. Schmid R., Hammaker L. — *New Engl. J. Med.*, 1961, 264, 223.
123. Schumacher G. A. — *New Engl. J. Med.*, 1960, 262, 969.
124. Seitelberger F. — Brain Lipids and Lipoproteins and the Leucodystrophies, edit. J. Folch-Pi, H. Bauer. (EDS), Amsterdam, 1963.
125. Shinosari T. — *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1926, 100, 564.
126. Shy G. M., Magee K. R. — *Brain*, 1956, 79, 610.
127. Shy G. M., Wanko T., Rowley P. T., Enge A. G. — *Exp. Neurol.*, 1961, 3, 53.
128. Shy G. M., Engel W. K., Somers S. E., Wanko T. — *Brain*, 1963, 86, 793.
129. Sjögren T. — *Confin. neurol. (Basel)*, 1950, 10, 293.
130. Sjögren T., Larsson T. — *Acta psychiat, scand. (Suppl.)*, 1957, 113, 32.
131. Spiegel-Adolf M., Baird H. W., Szekely E. G., Coleman H. S. — *Confin. neurol. (Basel)*, 1960, 20, 343.
132. Stark P. — *J. Génét. hum.*, 1958, 7, 1.
133. Sternlieb I. — *Bull. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1965, 116, 859.
134. Stevenson A. C. — *Ann. Eugen. (Lond.)*, 1953, 18, 50.
135. Svennerholm L. — Brain Lipids and Lipoproteins and the Leucodystrophies, edit. J. Folch-Pi și H. Bauer, Amsterdam, 1963.
136. Sutherland T. M. — *Brain*, 1958, 79, 635.
137. Thums K. — *Nervenartz*, 1939, 12, 463.
138. Tingey A. H., Edgar G. W. F. — *J. Neurochem.*, 1963, 10, 817.
139. Tridon P. — Les dysraphies de l'axe nerveux et de ses enveloppes cranio-rachidienns, Ed. G. Doin, Paris, 1959.
140. Tyler F. H., Wintrobe M. M. — *Ann. intern. Med.*, 1950, 32, 72.
141. van Bogaert L. — *J. Génét. hum.*, 1952, 1, 6.
142. van Bogaert L. — Maladies nerveuses génétiques d'ordre métabolique, Liège, 1962.
143. Voiculescu V. — Culegere de studii și monografii de neurologie, Ed. Acad. R.P.R., 1959.
144. von Verschver O. F. — Genetik des Menschen, Lehrbuch der Human-Genetik, Urban und Schwarzenberg, München-Berlin, 1959.



145. Waldenström J. — *Acta genet. (Basel)*, 1956, 6, 122.
146. Waldenström J. — *Amer. J. Med.*, 1957, 22, 759.
147. Walton J. N., Nattras F. J. — *Brain*, 1954, 77, 169.
148. Watson C. J. — Diseases of metabolism, edit. G. G. Duncan, Ed. W. B. Saunders, Philadelphia — Londra, 1964.
149. Welander L. — *Acta med. scand. (Suppl.)*, 1951, 141, 265.
150. Westphal C. — *Berl. klin. Wschr.*, 1885, 22, 489.
151. Williams R. D. B., Ling Tang J. — *Amer. J. Dis. Child.*, 1960, 100, 924.
152. Witkop C. J., Henry F. V. — *J. Speech Dis.*, 1963, 28, 109.
153. Wohlfart G. — *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1951, 10, 109.

Capitolul al X-lea

GENETICA ÎN PSIHIATRIE

Aurelia Sîrbu

Genetica a găsit totdeauna un larg răsunet în psihiatrie, pentru că pe de o parte psihiatrii erau dornici de argumente acolo unde aveau numai ipoteze, iar pe de altă parte pentru că geneticienii se simţeau ispitiţi să descifreze secretele lui *homo sapiens*, în compartimentul său cel mai specific. Psihiatria oferă geneticienilor o situaţie particulară, deoarece în ea confluează datele biologiei cu ale psihologiei, în ea biochimia se alătură ciberneticei, iar sociologia, artei. Poziţia psihiatriei a servit de multe ori ca probă de rezistenţă teoriilor asupra omului, iar bolile psihice au demonstrat suferinţa, alienarea, dezadaptarea şi incompatibilitatea în cel mai înalt grad al specificităţii umane.

Progresele geneticei nu au fost urmate în paralel de progresele psihiatriei; proporţia a rămas aproximativă, deoarece aici mai mult ca oriunde în medicină, ereditatea stă faţă în faţă cu mediul, celebra controversă *„nature-nurture"* (natură-hrană) rămînînd mereu valabilă.

Sîntem cu toţi bucuroşi de noile cuceriri ale geneticei moleculare moderne, dar sîntem în acelaşi timp conştienţi şi de limitele cunoştinţelor noastre actuale atunci cînd subliniem necunoscutele sau rămînem rezervaţi în faţa unor ipoteze prea îndrăzneţe. Este adevărat că genetica, prin noile sale date, a demonstrat corelaţia potenţialelor energetice care contribuie la ansamblul structural al fiinţei umane, dar distanţa între cunoştinţe şi realitate mai permite încă existenţa unui „clivaj", unde încap o serie de teorii atractive, dar insuficient fondate. „Balanţa genelor" coordonează meticulos funcţionalitatea organismului în vederea permanentei sale integrări sub forma homeostaziei, a echilibrului, a adaptabilităţii (2). Descoperirea genelor intermediare, alături de cele dominante şi receptive, a îmbogăţit înţelegerea transmiterii multifactoriale şi existenţa fenomenelor cumulative care stau la baza dinamismului genetic uman.

Studiul genetic al persoanelor geniale a reliefat prezenţa înclinaţiilor, a aptitudinilor particulare (mai ales cînd este vorba de talente) şi de ceilalţi membri ai familiilor respective, ceea ce pledează pentru transmiterea lor ereditară. Tot genetica ajută la explicarea întreruperii survenite uneori la transmiterea unui talent, cum a fost cazul tradiţiei muzicale din familia Bach; se crede că această întrerupere s-ar datori unei căsătorii cu persoane lipsite de talent muzical sau chiar cu purtătorii unor gene recesive pentru surditate. Astăzi cîştigă

din ce în ce mai mult teren presupunerea că și alte particularități ale persoanei umane, cum ar fi rapiditatea și corecta orientare într-un spațiu nou, ar fi legate de prezența unui factor integrator transmis ereditar. Tot genetica este capabilă să înlăture și eroarea ipotezei care lega genialitatea de boala mintală; studiile pe familiile de artiști au constatat că nu există o proporție crescută, „o ereditate încărcată“ de boli psihice în aceste cazuri comparativ cu populația obișnuită (2, 5, 8).

Investigațiile genetice în psihiatrie sînt greoaie și îndelungate; cifrele de comparație oscilează de multe ori de la o țară la alta, de la un autor la altul; sistematizarea nosologică suferă și ea influențe considerabile, după cum autorii respectivi sînt adepții unei clasificări sau a alteia. Din aceste motive există încă multe imprecizii, care nu permit extinderea unor cercetări sau sintetizarea lor într-un numitor comun, valabil pentru bolile psihice. Deocamdată sîntem lipsiți de aparatura tehnică necesară în comparație, de exemplu, cu hematologii sau virusologii iar particularitățile structurale ale psihicului uman sînt destul de greu de cuprins în parametrii metodelor contemporane.

Modul de transmitere a caracterelor reclamă pentru genetica umană mai multe elemente decît cele furnizate de mendelismul simplu, chiar dacă îl suplimentăm cu o serie întreagă de explicații și excepții (10). Genele, de asemenea, își exercită influența lor asupra întregii vieți. Similar enzimelor, ele pot accelera, întîrzia sau modifica mersul proceselor biochimice. În viață sîntem mereu sub influența lor, deși nu ajung niciodată să-și manifeste în întregime potențialul disponibil. S-a calculat astfel că fiecare persoană poartă un minimum de 8 gene recesive patologice care, la rîndul lor, suferă necontenit modificări sub influența mediului ambiant.

Răsunetul „teoriei psihozei unice“, lansată de școala germană, s-a resimțit și în cercetările genetice, unde s-a încercat găsirea unor argumente care să pledeze pentru ștergerea limitelor nosografice din psihiatrie, tablourile clinice psihopatologice urmînd a fi considerate drept varietăți ale unor factori nocivi comuni, cu intensitate de acțiune diferită. Studiile pe familii cu bolnavi psihici au dovedit netemeinicia unor atari afirmații, cercetările genetice făcute în acest sens demonstrînd existența unei diferențe de specificitate și nu numai de gravitate în transmiterea bolilor psihice.

În psihiatrie, genetica ilustrează o serie de probleme-cheie, din înțelegerea psihopatologiei umane; pentru aceasta, am ales cîteva capitole mai demonstrative, după cum urmează:

I. *Oligofrenia,* cadru unde s-au resimțit din plin noile cercetări de genetică. Datorită lor a fost posibilă delimitarea unor entități etiologice și înțelegerea unor mecanisme metabolice care stau la baza deficitelor intelectuale.

II. *Psihozele senile,* al căror număr în creștere reclamă cercetări genetice noi și pe baza lor o înțelegere mai clară a omului în perioada vîrstei înaintate.

III. *Psihoza periodică* servește drept ilustrare pentru unitatea și integrarea datelor genetice în analiza modificărilor psihopatologice.

IV. *Schizofrenia* demonstrează marile controverse care frămîntă psihiatria contemporană și incertitudinea, relativitatea unor interpretări genetice.

V. *Psihopatiile* constituie domeniul în care genetica este confruntată cu factorii social-culturali în precizarea etiopatogeniei.

I. OLIGOFRENIA

Este denumirea uneia din cadrele nosografice cele mai vechi din psihiatrie şi în care numitorul comun al simptomatologiei este alcătuit din insuficienţa dezvoltării funcţiilor cognitive. S-ar putea ca Baret să fi exagerat cînd a apreciat că 90% din inteligenţă se datoreşte genelor; în tot cazul, el a subliniat însă în deplin acord cu psihologii că ponderea cea mai mare în inteligenţă o au factorii genetici. Pornind de la acest fapt, psihologii pot, ca, studiind atent familia, să facă o serie de aprecieri prognostice referitoare la coeficientul inteligenţei descendenţilor. Unii autori au redus proporţia ereditătii la 60%, subliniind că factorii de mediu pot să aibă un rol considerabil, chiar şi în domeniul sferei cognitive, ajungînd să „corecteze" natura cu 20—30%. „Genele — spune G. Murphy — au stabilite potenţiale inexorabile, dar ceea ce se va realiza din aceste potenţiale depinde în mare măsură de circumstanţele de dezvoltare; să nu uităm însă că în acelaşi timp şi influenţa mediului este limitată de potenţialele genetice" (9).

De la început s-a reliefat cu uşurinţă în faţa cercetătorilor eterogenitatea oligofreniei. Aici sînt grupate toate bolile endogene şi exogene care produc insuficienţe în dezvoltarea proceselor cognitive, boli care sînt studiate de psihiatri, neurologi, geneticieni, pediatri, endocrinologi, psihologi. Criteriile de clasificare folosite de psihiatri şi psihologi sînt non-etiologice, ceea ce face pe unii autori să vorbească de sindromul oligofreniei. Ţinîndu-se seama de intensitatea tabloului fenomenologic, s-a vorbit de debilitate mintală, imbecilitate şi idioţie, iar în prezent la sugestia autorilor francezi se folosesc termenii de oligofrenie simplă sau uşoară şi oligofrenie profundă sau gravă.

Etiologia cîştigă teren, în cadrul oligofreniei desprinzîndu-se o serie de factori cauzatori şi conturîndu-se în felul acesta noi boli. Diversitatea mare a agenţilor nocivi pledează însă pentru existenţa unei poligenii în transmiterea inteligenţei şi pentru o strînsă interferenţă între funcţiile psihice, neurologice şi endocrine.

Pînă în prezent, etiologia cunoscută în oligofrenie acoperă 10—30% din totalul cazurilor. Desigur că cifra nu este prea mare, dar progresele actuale din genetică şi din biologia moleculară îndreptăţesc speranţele în vederea descoperirii a noi şi noi factori cauzatori.

Cercetările electroencefalografice din oligofrenie pledează şi ele pentru natura ereditară a acestei stări morbide; cu ajutorul lor s-a evidenţiat (similar cu epilepsia) trasee cu modificări ale biocurenţilor cerebrali, care sînt asemănătoare şi uneori chiar identice la membrii aceleiaşi familii de oligofreni.

Riscul morbidităţii în populaţie este în general de 1%; se crede că oligofrenia se transmite recesiv şi foarte probabil prin gene legate de sex, ceea ce ar explica numărul mai mare de bărbaţi observat decît de femei. Apariţia unei aglomerări de gene în familiile de oligofreni, demonstrează că mariajele nu se fac la întîmplare, cum s-a crezut multă vreme; analizele psihometrice au găsit o serie întreagă de asemănări considerabile ale coeficientului de inteligenţă a soţilor (5).

Cifrele generale care apar în studiile pe oligofreni sînt următoarele:

— 15% (13—18%), cînd părinţii au o inteligenţă normală;
— 40% (33—43%), cînd un părinte este oligofren;
— 90% (82—94%), cînd ambii părinţi sînt oligofreni.

Una dintre cele mai cunoscute lucrări pe gemeni în acest domeniu aparţine şcolii din München. Juda a constatat o concordanţă de 100% la MZ şi de 58% la DZ. În schimb, Rosanoff pe un material similar a găsit numai 91% concordanţă pentru MZ şi 53 pentru DZ.

Windenskow a împărţit cazurile de oligofrenie după gravitatea deficitului de inteligenţă în două grupuri: grupul A — oligofrenie uşoară; grupul B — oligofrenie gravă. La grupul A a găsit că 51% a rudelor aveau un coeficient de inteligenţă scăzut, pe cînd în grupul B cifra era numai de 12%. Explicaţia acestei diferenţe însemnate s-ar găsi în faptul că oligofrenia gravă de foarte multe ori este cauzată de factori externi.

S-a propus de asemenea o nouă clasificare a oligofreniei, ţinîndu-se seama de importanţa factorilor genetici (4), după cum urmează:

— oligofrenie cu factori genetici neidentificaţi;
— oligofrenii dismetabolice;
— oligofrenii cromozomiale.

a) Grupul oligofreniei cu factori genetici neidentificaţi rămîne deocamdată cel mai numeros. Se crede, pe baza studiului pe familii şi pe gemeni, că există o transmitere ereditară, evidenţiată de corelaţia strînsă dintre coeficientul de inteligenţă a părinţilor şi a copiilor şi de concordanţa aproape totală observată la gemeni monozigoţi.

b) Studiile biochimice au permis identificarea oligofreniilor dismetabolice, oligofrenii datorite unor gene anormale dominante sau recesive care intervin în mecanismul intim al organismului. Afecţiunile metabolice în care se găseşte oligofrenia ca unul din complexele simptomatologice de mare constanţă sînt următoarele (6):

— Tulburări ale metabolismului lipidic: boala Tay-Sachs; boala Niemann-Pick; boala Gaucher; gargoilismul etc.
— Tulburări ale metabolismului glucidic: galactosemia; boala Gierke etc.
— Tulburări ale metabolismului aminoacizilor: fenilcetonuria; leucinoza etc.

Bolile dismetabolice ilustrează cît de diferite sînt mecanismele etiopatogenice care se repercutează asupra dezvoltării normale a inteligenţei. Succesele noi terapeutice permit oprirea şi prevenirea chiar a instalării unei oligofrenii (oligofrenia fenilpiruvică, galactosemia).

c) Grupul oligofreniilor datorite aberaţiilor cromozomiale au progresat în înţelegere o dată cu noile metode de studiu al cariotipului. În general, la 200 de nou-născuţi, unul prezintă aberaţii cromozomiale identificabile cu tehnica actuală; iar din totalul aberaţiilor cromozomiale cunoscute, 2/3 privesc cromozomii sexuali (2).

Unii cercetători entuziasmaţi de rezultatele obţinute în această direcţie speră că prin analiza cariotipului pe o scară mai largă se vor putea decela în continuare multe cazuri de oligrofenie cu aberaţii cromozomiale.

Boala Down are a bogată bibliografie, ea fiind una dintre bolile cromozomiale cel mai bine cunoscute. Aici se insistă mereu şi pe bună dreptate asupra importanţei consideraţiilor genetice. Cînd boala Down (trisomia 21) se datoreşte lipsei de disjuncţie a cromozomului, riscul mamei de a mai avea un copil bolnav este de 1:600 similar cu riscul din populaţie; el însă devine de 1:3 cînd trisomia se datoreşte unei translocări. Cunoaşterea cariotipului, mai ales la femeile tinere, poate aduce astfel servicii mari (10).

Din rîndul bolilor cromozomiale mai fac parte boala Turner, boala Klinefelter, trisomia cromozomului X, afecţiuni binecunoscute de geneticieni şi pediatri, în descrierea simptomatologică a cărora, oligofrenia de intensitate variabilă ocupă un loc important (3).

În ultimii ani, făcîndu-se sinteza particularităţilor simptomatologice întîlnite în cadrul bolilor cromozomiale, s-a observat că aberaţiile cromozomiale ale autozomilor sînt însoţite fără excepţie de oligofrenii; în schimb, în cazul aberaţiilor cromozomilor sexuali care nu determină în mod obligatoriu oligofrenia, s-a observat foarte frecvent prezenţa tulburărilor comportamentale şi nevrotice, cu toate că încă nu se pot face corelaţii precise între tulburările metabolice, aberaţiile cromozomiale şi tabloul simptomatologic observat (10).

II. PSIHOZE SENILE

Psihozele senile au intrat destul de tîrziu în centrul preocupărilor genetice, deşi anatomopatologii şi-au făcut încă de la începutul secolului un titlu de glorie descriindu-le particularităţile.

La început, psihozele senile au fost considerate ca procese normale de îmbătrînire şi tratate ca atare. Mai tîrziu, o dată cu dezvoltarea gerontopsihiatriei, s-a remarcat contribuţia factorilor ereditari în declanşarea acestor boli. Prelungirea duratei medii de viaţă, a suscitat un interes faţă de studiul psihozelor senile. Deocamdată se consideră că în cadrul psihozelor senile, factorii ereditari se pot găsi în 3 ipostaze diferite (13) şi anume:

— influenţînd în aşa măsură starea de sănătate dinaintea apariţiei psihozei senile, încît individul să sufere o serie de transformări somatice şi psihice;

— reprezentînd însăşi factorii cauzatori ai psihozelor senile;

— influenţînd patologia bătrîneţii.

Cercetările pe gemeni au reliefat o strînsă concordanţă între forma psihozei senile şi evoluţia sa pentru vîrsta de 60—75 de ani. Cifrele de concordanţă sînt mai scăzute decît în alte boli ereditare psihice (43% pentru monozigoţi şi 6—8% pentru dizigoţi). În familiile bolnavilor s-au găsit în schimb un mare număr crescut de psihoze senile faţă de riscul general al îmbolnăvirii din populaţie. În studiile cromozomiale din psihozele senile s-au pus în evidenţă o serie de modificări particulare, care ar putea fi identificabile numai în psihozele senile. Deocamdată însă mecanismul biochimic nu este elucidat; se pare că atrofiile corticale presenile şi senile s-ar datora unor gene dominante şi unor gene intermediare.

Boala Pick, greu de diagnosticat la debutul ei a fost obiectul de cercetare a unor geneticieni suedezi (Sjögren, 1962), care au calculat că 19% din părinţi

şi 9% din rudele bolnavilor prezintă manifestări în mare parte asemănătoare. Aceasta ar permite supoziţia unei transmisibilităţi ereditare; afecţiunea s-ar datori unei gene autozomale dominante cu penetraţie redusă.

Boala Alzheimer este destul de bine diferenţiată anatomoclinic; mai recent, se crede că s-ar datori unei transmiteri multifactoriale şi nu unei gene autozomale dominante, cum se susţinea la început (13).

Sindroamele demenţiale din cadrul psihozelor senile oferă un alt model patologic al proceselor cognitive, legat de ereditate; factorii ereditari contribuie nu numai la deplina dezvoltare a funcţiilor de cunoaştere, ci în mare măsură şi la păstrarea integrităţii acestor procese psihice, care stau la baza culturii şi civilizaţiei omenirii.

În anul 1968, demenţa senilă a fost catalogată ca o boală ereditară, cauzată de o genă dominantă autozomală unică şi cu o penetraţie în creştere proporţională cu vîrsta (10). Corelaţia demenţei senile cu boala Alzheimer, boala Pick şi cu ateroscleroza cerebrală este discutabilă; pînă în prezent, studiile pe familii nu au dat cifre concludente (13, 15).

III. PSIHOZA MANIACODEPRESIVĂ

Psihoza periodică are un cadru bine delimitat şi o literatură unitară, ceea ce a permis geneticienilor să opereze aici pe un teren sigur. Studiile de la începutul secolului au fost repede confirmate de cercetările contemporane. La început se credea că psihoza periodică este o boală ereditară recesivă care s-ar transmite printr-o genă legată de sex, fapt care ar explica numărul mai mare de femei. În deceniul precedent s-a arătat însă că psihoza periodică se transmite dominant, iar argumentul principal l-a constituit numărul de cazuri întîlnite în familiile bolnavilor în comparaţie cu populaţia în general. Dacă în populaţie riscul îmbolnăviri este de 0,4—1%, el ajunge la rudele colaterale la 16,7%, la rudele apropiate la 22,7%, la părinţi la 23,4%, iar la copii la 24,50% (5).

Concordanţa la gemenii monozigoţi pentru psihoza maniaco-depresivă este de 60%, iar la gemenii dizigoţi de 31%. Lader şi Russel citează un caz mai rar, de 3 gemene care au prezentat toate o psihoză periodică.

Cercetările întreprinse în cadrul O.M.S. (10) au subliniat transmiterea ereditară dominantă cu penetraţie incompletă pentru psihoza maniaco-depresivă. În favoarea unei gene dominante şi a unei constelaţii poligenice pledează şi faptul că persoanele care fac parte din familia bolnavului poartă amprenta particulară a acestei psihoze prin prezenţa unor trăsături caracteristice: dispoziţie afectivă oscilantă, hipomanie, depresiune. Potenţialitatea genetică a acestei psihoze se datoreşte unui genotip specific, genotip care ar tulbura controlul neurohormonal al vieţii afective şi mai ales al posibilităţii de a da răspunsuri emoţionale extreme (2). În terapia modernă antidepresivă cu timoanaleptice s-a pus deja în evidenţă existenţa unor particularităţi de răspuns care probabil ţin tot de structura genetică a persoanelor tratate.

Melancolia de involuţie mai ocupă încă o poziţie discutabilă, unii autori incluzînd-o în psihoza periodică, alţii alăturînd-o psihozelor presenile. De-

oarece la rudele bolnavilor există un risc de două ori mai mare de îmbolnăvire decît în cadrul populației în general, aceasta ar pleda pentru atașarea melancoliei de involuție la psihoza periodică, ipoteză încă insufiecient argumentată în fața unor particularități psihopatologice care îndreptățesc autonomia sa (14).

IV. SCHIZOFRENIA

Ereditatea în schizofrenie a făcut obiectul unor cercetări îndelungate; aici abundă controversele, pentru că analiza datelor obținute trebuie făcută pe două coordonate ele însele încă insuficient precizate: cadrul și limitele schizofreniei pe de o parte, evoluția și formele sale clinice pe de altă parte.

Ultimul deceniu a excelat în publicații despre schizofrenie. Cu toate acestea, cercetările de genetică nu au ajuns prea departe în acest domeniu, în care proporțional cu alte aspecte, ele ocupă un loc modest și se bazează pe un număr relativ restrîns de cazuri. Motivația trebuie căutată în munca extrem de laborioasă pe care o necesită genetica modernă în abordarea psihopatologiei.

Pentru a fundamenta vechiul deziderat al organiciștilor, geneticienii s-au străduit să demonstreze originea ereditară a schizofreniei, bazîndu-se pe studiul familiilor, al gemenilor și al copiilor cu părinți schizofrenici.

Complexitatea mecanismelor etiopatogenetice ale schizofreniei a vizat mereu factorii genetici și social-familiali, înclinînd cînd în favoarea unora, cînd în a altora, după părerea autorilor care le prezentau. Cercetările biochimice de mare speranță în schizofrenie au reliefat o „vulnerabilitate genetică primară“, vulnerabilitate manifestată într-un deficit de coordonare a sistemului reactiv al organismului. Acest deficit s-ar datori:

— incapacității celulei (sistemului) hepatice de a reține și a transforma substanțele toxice;

— prezenței unei erori metabolice în ciclul feniltiazină;

— existenței unui blocaj sinaptic cu fenomene secundare stimulatorii;

— apariției unei toxicoze taraxeinice.

În planul noilor cercetări genetice este în curs de elaborare argumentația pentru prezența unei tulburări genetice specifice de ordin metabolic, care ar produce dezagregarea personalității, autismul, derealizarea. Se speră că studiile substanțelor halucinogene ar putea fi de mare folos în această direcție. În schizofrenie ar exista o insuficiență reglatoare ereditară (7), care modifică funcțiile de angrenaj unitar al formațiunilor diencefalice, mezencefalice și reticulare și care ar avea fără îndoială grave repercusiuni asupra circuitelor corticale cerebrale.

Leonhard (1832), găsind schizofrenie în familiile cu psihoze atipice, a susținut existența unei gene dominante cu manifestări variabile. Böök (1953) atribuie schizofrenia unei gene recesive, care se manifestă preponderent la homozigoți și la 20% dintre heterozigoți. Transmiterea recesivă a dus la observația atentă a heterozigoților, la care s-au remarcat trăsături schizoide. Numărul crescut de schizofrenie și personalitate schizoidă găsite în grupurile izolate poate fi atribuit consanguinității mărite și mediului ostil de existență, în care oportunitatea unei comunicări, a unei vieți sociale este redusă la minimum,

Există o serie de autori care nu cred că transmiterea schizofreniei s-ar face recesiv, deoarece numai 40% dintre copii cu părinți schizofreni fac această psihoză; dacă schizofrenia ar depinde de o genă recesivă, atunci copiii dintr-un cuplu de schizofreni, fiind homozigoți, ar trebui să fie cu toții schizofreni. Or, cifra de 40% demonstrează mai degrabă că schizofrenia depinde fie de o varietate de gene, fie de o genă dominantă cu penetrație diminuată. Într-un studiu pe 355 schizofrenici internați, s-a constatat că numărul schizofreniei crește printre copiii a căror părinți sînt înrudiți, ceea ce ar însemna că cel puțin 1/6 din schizofrenici pot demonstra o transmitere recesivă (5).

Argumentele prezentate sînt deocamdată insuficiente pentru a exclude caracterul dominant al transmiterii, dar și pentru a opta cu certitudine pentru cel recesiv. Aceasta cu atît mai mult, cu cît unii autori continuă să creadă în monogene, pe cînd alții presupun că ereditatea schizofreniei se sprijină pe un număr variabil de gene, care ar putea atinge cifra de 125. Imprecizia aceasta se datorește și impreciziei diagnosticului de schizofrenie: în unele publicații se observă la o analiză mai amănunțită că numai 1/5 din cazuri erau psihoze adevărate, restul fiind stări schizoide eronat considerate de unii autori drept forme latente ale psihozei discordante.

Studiile pe gemeni au complicat și mai mult controversele. Probabilitatea îmbolnăvirii gemenilor dizigoți este de 14,5, aproape egală cu a fraților și surorilor, care este de 14,3. Aici, ca în toate bolile genetice de altfel, gemenii dizigoți de același sex au un risc sensibil crescut față de cei de sexe diferite, fapt valabil și pentru frații și surorile bolnavului. Apariția schizofreniei la gemeni monozigoți oferă date semnificative pentru susținerea bazei genetice a schizofreniei. Debutul afecțiunii la gemenii monozigoți se face la un interval de 2 ani unul de altul. Dacă însă acești gemeni au trăit separat unul de altul cel puțin 5 ani înainte de îmbolnăvire, riscul apariției psihozei discordante pentru al doilea gemen scade de la 91,5% la 77,6% (5, 13).

Dacă schizofrenia apare numai la unul dintre gemenii monozigoți sau dizigoți, nu este deloc sigur că va apare la cel mai slab, mai astenic, mai longilin, ceea ce exclude o corelație exclusivă cu constituția leptosomică. Un studiu pe 3 gemeni, publicat în 1952, arată că cele 2 fete gemene au făcut schizofrenie, pe cînd fratele geamăn a rămas sănătos (5). Observarea a 3 gemeni de același sex (băieți) a constatat că toți au făcut schizofrenie.

Cu toate acestea, există încă mulți sceptici care consideră că evidențele sînt prea reduse ca număr, iar cercetările pe gemeni ar putea să sugereze și numai o predispoziție, astfel că argumentele geneticienilor nu constituie încă o bază suficient de solidă pentru o teorie ereditară a schizofreniei (13, 14).

Mult discutata concordanță și ilustrarea cifrelor probatorii pentru ereditatea schizofreniei nu sînt chiar așa de evidente, dacă ne gîndim că și factorii nocivi acționează în același timp asupra întregii familii; ei pot fi și trebuie incluși în etiopatogenia schizofreniei. De aceea s-a lansat și termenul de pseudoereditate pentru schizofrenie. Observațiile nu vor să excludă valoarea datelor genetice pentru schizofrenie; ele vin doar să tempereze elanul acelora care ar exagera acești factori, uitînd de rest, pentru că deocamdată în schizofrenie nu dispunem de certitudinea unor date similare cu oligofrenia sau cu

psihoza periodică, ceea ce nu înseamnă deloc că cercetările trebuie abandonate. Speranța unor precizii se întrezărește într-un viitor destul de apropiat.

Genetica a fost folosită în schizofrenie și pentru demonstrarea independenței unor forme clinice, ipoteză deocamdată criticabilă (15), deși s-a găsit în formele nucleare de schizofrenie un implicat ereditar mai scăzut (34%) decît în formele atipice (50%), forme de altfel cu un prognostic mai favorabil. Tot în acest sens s-a constatat că forma paranoidă are un risc ereditar mult mai redus decît schizofrenia hebefrenă sau catatonică. Concordanța dintre studiile pe gemeni este mai mare în schizofrenia catatonică și hebefrenică decît în schizofrenia paranoidă. S-a mai remarcat că asemănarea tabloului psihopatologic prezentat de gemeni crește o dată cu cronicizarea bolii, cu toate că există și suficiente exemple de perechi de gemeni în care schizofrenia a luat forme diferite la unul și la altul dintre ei. În schimb, nu s-a constatat încă niciodată că în cadrul gemenilor, unul să facă schizofrenie, iar altul psihoză maniaco-depresivă.

Cu toate că în materie de genetică în schizofrenie, Kallmann rămîne autoritatea cea mai recunoscută (2), datele sale au fost cu greu corelate cu ale altor cercetători, pentru că diagnosticul său de schizofrenie include multe forme atipice, nevrotice, afective, comportamentale. Lucrările sale au fost criticate de Bellak pentru cadrul prea larg acordat schizofreniei și de Kölle care consideră cifrele lui Kallmann prea reduse spre a putea susține o ereditate recesivă (13, 15).

Aceste controverse oglindesc suficient incertitudinea care domnește încă.

În populație, riscul a fost calculat la 1—2%; cifrele sînt mai ridicate pentru grupurile izolate sau cu consanguinitate crescută (Suedia, Japonia).

În 1967 a apărut în S.U.A. o lucrare interesantă pentru genetica schizofreniei. S-au studiat două loturi comparative de schizofrenie: unul cuprinzînd cazurile de schizofrenie din perioada 1934—1936, perioadă dinaintea apariției medicamentelor psihotrope și altul din perioada 1954—1956 care a beneficiat de chimioterapia antipsihotică actuală. Erlenmayer a arătat că femeile schizofrenice se căsătoresc mai frecvent decît bărbații schizofrenici (43 la 23), ceea ce înseamnă că în antecedentele unui schizofrenic vom găsi mai frecvent o mamă schizofrenică decît un tată schizofrenic. Vîrsta căsătoriei este mai mică pentru femei și aceasta permite ca boala să debuteze după căsătorie. În studiul comparativ al celor două loturi s-a constatat pentru lotul al doilea o creștere a numărului de copii (de la 47 la 89), fapt care dovedește că terapia modernă dă posibilitate schizofreniei să se înscrie în proporțiile statistice normale pentru populație în general. Această creștere a natalității, privită ca o victorie a chimioterapiei, trezește însă îngrijorarea ortopsihiatrilor, știut fiind climatul glacial care domnește în căminele cu schizofreni (5).

În domeniul biochimiei, cercetările tind să evidențieze prezența unei serum-proteine psihoactivă capabilă să explice disociația schizofreniei; astfel reapare tentația unei „somatoze în schizofrenie".

Cu toate că deocamdată cercetările genetice din schizofrenie au spus prea puțin pentru a preciza etiopatogenia acestei afecțiuni, ele au spus suficient spre a determina căutarea unor noi date pe mai departe.

V. PSIHOPATIILE

Domeniul atît de controversat al psihopatiilor a fost inclus la începutul secolului în teoria degenerescenței mintale formulată de Morel-Magnan, teorie care dezarma orice speranță terapeutică. Ulterior, corectarea opiniei generale prin admiterea factorilor social-familiali în apariția și dezvoltarea unei psihopatii permite astăzi să considerăm existența unei etiologii multidimensionale, din care face totdeauna parte un element ereditar și altul social-familial. Intricarea factorilor ereditari și de mediu este complexă și realizează o varietate infinită de modele psihopatologice. Sînt astăzi multe argumente care pledează pentru o origine psihopatică a toxicomaniilor, perversiunilor și a delicvenței. Numărul mare de psihopați din familiile de alcoolici a sugerat chiar teoria genetotrofică a lui Williams, care explică dependența de alcool prin existența unui deficit metabolic produs de factori ereditari și agravat de mediu (5, 14). Studiile pe gemeni au permis în unele cazuri de delicvență să se dea o explicație genetică (5, 11, 14). Deocamdată atît procentele menționate în literatura medicală, cît și noile rezultate din studiul cariotipului nu acoperă decît în parte problematica dificilă a acestui cadru nosografic.

Trecerea în revistă succint a cîtorva afecțiuni reprezentative cu implicații genetice demonstrează varietatea aspectelor sub care se poate manifesta ereditatea în general în psihiatrie. Este sigur că noile cuceriri vor aduce o argumentație mai bogată și mai precisă acolo unde încă sîntem obligați să apelăm la ipoteze și (o dată cu aceasta) se va desfășura în continuare munca de descifrare a necunoscutelor din tablourile psihopatologice.

BIBLIOGRAFIE

1. Allport G. — Pattern and growth in Personality New York, 1965, p. 22—57.
2. Arieti S. — American Handbook of Psychiatry, Basic Books, New York, 1961 p. 175—197 (vol. I); p. 272—290 (vol. III).
3. Davidenkova E. F. — Bolile cromozomiale ale omului, Ed. medicală, București, 1966.
4. Ey H., Bernard P., Brisset Ch. — Manuel de psychiatrie, Ed. Masson, Paris, 1967, p. 710—731.
5. Eysenck H. J. — Handbook of Abnormal Psychology, Pitman Medical, Londra, 1968, p. 298—344.
6. Ionășescu V. — Tulburările metabolice în bolile neuropsihice, Ed. medicală, București, 1966.
7. Hoch P., Zubin J. — Psychopathology of schizophrenia, Ed. Grunae și Straton, New York, 1966, p. 252—277.
8. Lamy P. — Médecin de France, 1968, 193.
9. Murphy G. — Personality, New York, 1967.
10. O. M. S. — Recherches génétiques en psychiatrie, *Rapp. technique*, 1966, 346.
11. Petrilowitsch N., Baer R. — *Fortschr. Neurol. Psychiat.*, 1967, 11, 606—611.
12. Porot E. A. — *Manuel alphabétique de psychiatrie*, Presse Univ., Paris, 1965.
13. * * * — *Psychiat. Gegenwart*, 1967, I, p. 1—67.
14. Roșu S., Sîrbu A., Simulescu E., Crăciun O. — Date recente asupra eredității în psihiatrie, Comunicare U.S.S.M., Cluj, Secția de neuropsihiatrie, 1962.
15. Sternberg E. I. — *J. Neuropat. psihit. Korsakov*, 1962, 4, 606—624.

GENETICA ÎN PATOLOGIA CARDIOVASCULARĂ

Roman Vlaicu



Încă de multă vreme, frecvenţa cardiopatiilor congenitale în anumite familii a atras atenţia asupra rolului posibil al eredităţii în determinarea acestor îmbolnăviri. În zilele noastre, frecvenţa mai mare a unor boli cardiovasculare cronice (hipertensiunea arterială, ateroscleroza) în anumite familii, la anumite grupuri de populaţie, a avertizat asupra rolului posibil al eredităţii şi în producerea acestor boli. Interesul pentru studiul factorului genetic în patologia cardiovasculară este deci nu numai jusificat, dar şi absolut necesar.

Fenomenul genetic în patologia cardiovasculară este asemănător cu cel întîlnit în alte domenii ale patologiei umane. Factorii genetici pot interveni în determinismul unei cardiovasculopatii moştenite sau al unei cardiovasculopatii cîştigate. Gradul lor de implicare etiologică variază foarte mult; pot constitui unicul factor responsabil de geneza unei anomalii morfofuncţionale, mai deseori în bolile familiale, sau pot avea rolul de factori potenţiali într-un complex multifactorial cum este în cazul unor cardiopatii cîştigate. Devine deci necesară aprecierea ponderei, în fiecare caz în parte, a factorului genetic şi a factorilor din mediul înconjurător. Această descifrare este, adeseori, deosebit de dificilă.

Sub raportul gradului de implicare etiologică a factorilor genetici în patologia cardiovasculară se poate deosebi un grup al cardiopatiilor cîştigate, în etiologia cărora pe prim plan stau factorii din mediul extern — factorii genetici constituind deseori predispoziţia la boală — un grup al cardiopatiilor congenitale, la care ponderea factorilor genetici se întîlneşte în proporţie aproximativ egală cu cea a factorilor ecologici şi, în sfîrşit, un grup al cardiopatiilor moştenite în etiologia cărora rolul preponderent revine factorilor genetici.

În cele ce urmează se va analiza rolul factorilor genetici în patologia cardiovasculopatiilor congenitale şi a celor moştenite, familiale. Analiza va fi făcută în lumina datelor generale deja cunoscute, de pe poziţia clinicianului, care încearcă să profite de pe urma progresului realizat, mai ales în ultimii ani, în domeniul geneticii.

CARDIOPATIILE CONGENITALE

Termenul de „cardiopatie congenitală“ indică de fapt „o anomalie cardiovasculară“ prezentă la naştere. Acest termen nu are implicaţii de sens etiologic şi deci nu include noţiunea de ereditate. Multe dintre tulburările ereditare nu sînt congenitale (adică nu sînt prezente la naştere) şi, invers, multe dintre afecţiunile congenitale nu sînt ereditare, ci se datoresc intervenţiei unor factori din mediul extern, cum ar fi rubeola, talidomida sau tulburările în dezvoltarea intrauterină a fătului.

Studiul bazelor genetice ale anomaliilor cardiovasculare congenitale se adresează pe de o parte frecvenţei acestora, agregării lor familiale, rasiale, de grup sanguin etc. şi pe de altă parte, decelării procesului intim, la nivel biomolecular al substratului genetic al bolii (mutaţii genetice, aberaţii cromozomiale numerice sau structurale).

Studiul frecvenţei anomaliilor cardiovasculare congenitale se face prin metoda devenită astăzi clasică pentru astfel de studii, metoda epidemiologică. Datele cele mai reale sînt cele obţinute prin depistări active, mai ales în rîndul copiilor de şcoală. În general, frecvenţa anomaliilor cardiovasculare congenitale majore variază între 0,46 şi 0,6% (1,2). M. Campbell (3), sintetizînd datele din literatură în acest domeniu, ajunge la concluzia că frecvenţa anomaliilor cardiovasculare congenitale este de 0,6% din totalul naşterilor. După cercetările făcute de colectivul nostru, în oraşul şi regiunea Cluj, frecvenţa anomaliilor cardiace congenitale majore în rîndul copiilor de şcoală este de 0,6% (4).

Studiul propriu-zis al factorilor genetici se face cercetînd frecvenţa anomaliilor cardiovasculare congenitale la descendenţii purtătorilor de anomalii cardiovasculare congenitale, la rudele acestora, frecvenţa anomaliilor în cazuri de consanguinitate, în legătură cu vîrsta părinţilor, la gemeni, analize genealogice etc.

Frecvenţa la descendenţi. Un argument pentru posibila moştenire specifică a anomaliilor cardiovasculare congenitale este frecvenţa semnificativ mai mare a acestora la descendenţii bolnavilor identificaţi ca avînd astfel de leziuni faţă de frecvenţa întîlnită în rîndul populaţiei generale. Printre descendenţii a 1 227 de bolnavi cu anomalii cardiace congenitale, Campbell găseşte o frecvenţă de 1,7% anomalii cardiace congenitale faţă de 0,6% în rîndul populaţiei generale. Frecvenţe asemănătoare au găsit şi alţi autori (5, 6, 7). Aceleaşi studii au arătat şi o mare tendinţă a leziunilor de a fi concordante, adică prezenţa aceluiaşi tip de leziune la părinţi şi la descendenţi. Şansa de apariţie a concordanţei leziunilor este de 15—20 de ori mai mare la descendenţii celor cu anomalii cardiace congenitale decît şansa apariţiei concordanţei în rîndul populaţiei în general.

Studiul descendenţilor a arătat o frecvenţă diferită şi în legătură cu tipul leziunilor de la părinţi. Iată două statistici:

	Campbell (3) %	Lamy (cit. 7) %
Coarctaţia aortei	0,4	2,56
Defect de sept atrial	1,1	1,24
Defect de sept ventricular	1,7	0,47
Tetralogie Fallot	2,7	1,0
Persistenţa ductului arterial	2,1	1,2
Stenoza pulmonară	2,1	3,74

Se poate spune deci că există o agregare familială crescută a anomaliilor cardiace congenitale. Această constatare nu implică însă neapărat o explicaţie genetică simplă. Agregarea familială poate indica şi validarea unor tendinţe genetice prin factorii unui mediu înconjurător identic.

Frecvenţa la alte rude. În general, nu se observă a frecvenţă mai mare a anomaliilor cardiace congenitale la rudele bolnavilor cu anomalie cardiacă congenitală, altele decît descendenţii, decît în rîndul populaţiei în general. O frecvenţă de 1,3% a fost găsită la ascendenţii bolnavi, cu defect de sept atrial (3).

Consanguinitatea părinţilor. Cardiopatiile congenitale survin mai frecvent în cazuri de consanguinitate decît la restul populaţiei. Aceasta se explică prin faptul că în consanguinitate, datorită modului recesiv de transmitere a unor anomalii cardiace congenitale, şansele de împerechere a două gene recesive sînt sporite. O legătură strînsă a fost găsită între consanguinitate şi dextrocardie, fapt explicat încă din 1938 de către Cockayne (cit. 7), ca fiind datorit transmiterii unei simple gene autozome recesive. Astăzi, se consideră ca posibil şi sistemul genetic multifactorial (8).

Vîrsta părinţilor. Studiile făcute arată că există o strînsă corelaţie între vîrsta avansată a mamei şi mongolism, defect de sept ventricular şi tetralogie Fallot (3). L. S. Penrose (9) găseşte o corelaţie mai strînsă între apariţia anomaliilor cardiace congenitale şi vîrsta paternală avansată, indicată de diferenţa de vîrstă paternă-maternă.

Studiul gemenilor. Teoretic, dacă factorul ereditar ar fi factor major în determinarea anomaliei cardiace congenitale, ar fi de aşteptat ca la monozigoţi să găsim leziuni concordante, adică aceeaşi leziune la ambii gemeni, mult mai frecvent decît la dizigoţi. Or, datele statistice arată că nu există diferenţe în ceea ce priveşte concordanţa leziunilor la gemeni mono- sau dizigoţi, ba chiar că apar mai frecvent la dizigoţi (7). Această constatare subliniază posibilul rol etiologic al unor condiţii de dezvoltare intrauterină a gemenilor. Datele obţinute pînă în prezent privind transmiterea ereditară a anomaliilor cardiace congenitale la gemeni trebuie interpretate cu prudenţă şi discernămînt, în cadrul unei cauzalităţi mai degrabă multifactoriale.

Analize genealogice. Studiul genealogic al familiilor selecţionate arată că în anumite familii există o netă agregare familială a anomaliilor cardiace congenitale. Mai frecvent ca leziuni specifice apar persistenţa canalului arterial şi defectul de sept atrial. J. L. Johnson (10), studiind 200 de familii cu anomalii cardiace congenitale publicate în literatură, apreciază la 10% numărul familiilor în care există cazuri multiple de boală, sugerînd o frecvenţă familială. I. I. Nora şi colab. (11) au studiat 100 de familii, la care unul din membri avea defect de sept atrial; în 32 de familii a mai găsit cel puţin încă un membru cu defect de sept atrial. Studiile familiale sugerează transmiterea uneori simplă, recesivă, alteori simplă, dominantă, dar majoritatea autorilor înclină spre un sistem poligenic de manifestare a predispoziţiei genetice. Aceste ultime date statistice fac să se creadă că, în anumite cazuri, mai ales la feţii morţi şi la decedaţii imediat după naştere, anomaliile cardiace congenitale au o implicaţie etiologică genetică deosebit de importantă (7).

De la descoperirea rolului specific al aberaţiilor cromozomiale în cauzarea anomaliilor cardiace congenitale s-au făcut eforturi deosebite pentru depistarea acestor tulburări la bolnavii cu anomalii cardiace congenitale. Astăzi, studiul cariotipului a intrat în practica de laborator a descifrării factorilor genetici. Din 119 bolnavi cu cardiopatii congenitale majore, în 39 de cazuri s-au pus în evidenţă aberaţii cromozomiale de număr şi în 3 cazuri variaţii structurale. Din 100 de bolnavi cu anomalii vasculare multiple, în 10 cazuri s-au găsit aberaţii cromozomiale (12). Procente mai mari de aberaţii cromozomiale au fost găsite la avorturi cu feţi cu anomalii vasculare (13).

ANOMALII CARDIOVASCULARE MOŞTENITE

1. ABERAŢII CROMOZOMIALE

Anomaliile cardiovasculare se găsesc într-un complex de anomalii (la alte niveluri, organe şi ţesuturi); deseori, manifesătrile extracardiace sînt cele care se impun, conturează diagnosticul de anomalie genetică şi în complexul fenomenelor se descoperă şi anomalia cardiovasculară:

— Mongolismul, triplo 21, este cea mai cunoscută din acest grup. O proporţie de 35% dintre cei cu triplo 21 au anomalie cardiacă congenitală. În 60% din cazuri, aceste anomalii duc la moartea înainte de vîrsta de 10 ani (7, 14). Anomaliile mai frecvent întîlnite sînt: absenţa completă a septului interatrial, persisenţa canalului atrioventricular comun, persistenţa *ostium primum* şi defecte ale *ostium secundum*.

— Sindromul Turner, sindrom XO (un cromozom X mai puţin) se însoţeşte frecvent de coarctaţia aortei sau stenoza pulmonară şi mai rar de defect de sept atrial, de hipertensiune arterială, angiomatoză intestinală (hemoragii) şi de limfedem. Anomaliile cardiovasculare se întîlnesc în aproximativ 44% din cazuri (3).

— Trisomia grupului D_1 (triplo 13—15) se acompaniază de tulburări severe la ochi, creier, mînă, defect de sept ventricular şi dextropoziţia inimii.

— Trisomia grupului E (triplo 17 sau 18) se însoţeşte de defect de sept ventricular, defecte valvulare şi/sau persistenţa ductului arterial.

Este de remarcat faptul că în cazul aberaţiilor cromozomiale, anomaliile cardiovasculare se însoţesc de numeroase alte anomalii, extracardiace, care, de cele mai multe ori, impun considerarea diagnosticului în cadrul unui sindrom dat.

2. TULBURĂRI MONOGENICE

Acest grup de tulburări genetice cuprinde un mare număr de afecţiuni:

a) TULBURĂRI EREDITARE ALE ŢESUTULUI CONJUNCTIV

— Sindromul Marfan este datorit unei tulburări autozomale dominante cu manifestări multiple: *ectopia lentis*, tulburări osoase (dolicostenomelie, aracnodactilie, *pectus excavatum* sau *carinatum*, cifoscolioză), anevrism disecant

al sinusului Valsalva, al aortei ascendente și insuficiență aortică datorită disecării sau dilatării aortei. Se mai pot întîlni și alte leziuni valvulare, aortice, ale arterei pulmonare, defect de sept atrial sau ventricular etc. Sindromul Marfan poate fi încadrat în grupul mucopolizaharidozelor. În urina acestor bolnavi se pune în evidență o cantitate crescută de mucopolizaharide, în special condroitinsulfat A sau C.

— **Pseudoxanthoma elasticum** este o tulburare autozomală recesivă, în care se întîlnesc tulburări ale pielii și anomalii vasculare (digestive, oculare, periferice).

— **Sindromul Ehlers-Danlos** se caracterizează printr-un defect în organizarea normală a fibrilelor de colagen. Se manifestă prin modificări la nivelul articulațiilor (hiperextensibilitate), ale pielii, rupturi ale marilor vase, cu hemoragii, rupturi la nivelul intestinului; pot apărea cardiomegalie, sufluri la nivelul inimii, disecția aortei etc. Există cazuri în care sindromul Ehlers-Danlos se asociază cu sindrom Marfan dînd un tablou clinic foarte complex.

— **Sindromul Hurler** face parte din grupul bolilor datorite unei tulburări înnăscute în metabolismul mucopolizaharidelor. În sindromul Hurler se întîlnește o tulburare genetică în metabolismul condroitinsulfatului B și a heparitinsulfatului, cu depozitări excesive de material în diverse părți ale organismului, inclusiv în intima vaselor (pseudoateroscleroză). Se pot întîlni dilatații ale inimii, deformări valvulare (mai ales ale valvulei mitrale), fibroză subintimală și îngustarea arterelor coronare, miocardofibroză și insuficiență cardiacă.

— **Sindromul Morquio-Ullrich și sindromul Scheie,** alte două sindroame din grupul mucopolizaharidozelor, se însoțesc de anomalii cardiace congenitale. Sindromul Morquio-Ullrich se transmite autozomal recesiv; se caracterizează printr-o excreție mărită de keratosulfați și prezintă anomalii osoase (vertebre turtite), cornee încețoșată și insuficiență aortică. *Scheie's sindrom* se transmite autozomal-recesiv; se caracterizează prin eliminare sporită de condroitinsulfat B și se manifestă prin articulații rigide, modificări caracteristice ale feței, cornee încețoșată, tulburări ale intelectului și insuficiență aortică.

b) GRUPUL TULBURĂRILOR NEUROLOGICE ȘI MUSCULARE

Mutațiile monogenice din acest grup nu se repercutează numai asupra țesutului nervos și/sau muscular ci și asupra aparatului cardiovascular, în următoarelor forme de îmbolnăvire:
— ataxia Friedreich;
— disautonomia familială Riley-Day;
— distrofia miotonă;
— distrofia musculară Duchenne.

c) FACOMATOZE

— Neurofibromatoza și sindromul von Hippel-Lindau se asociază frecvent cu un feocromocitom.

— Scleroza tuberosis este frecvent asociată cu un rabdomiom miocardic.

d) ERORI ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM

— Boli de depozitare ale glicogenului care interesează și miocardul (forma cardiacă a bolii von Gierke, cunoscută și sub denumirea de boala Pompe; datorită unei deficiențe enzimatice, a α-amilazei, se transmite autozomal-recesiv și se manifestă la nivelul aparatului cardiovascular, prin cardiomegalie fără cianoză și fără sufluri);

— Hiperplazia suprarenalei cu hipertensiune arterială.

e) MALFORMAȚII VASCULARE

— Teleangiectazia hemoragică ereditară Rendu-Osler-Weber, manifestată prin hemoragii deseori pe aceleași teritorii vasculare, însoțită adesea de fistule arteriovenoase pulmonare, este o tulburare care se moștenește ca o trăsătură dominantă.

— Limfedemul ereditar (tipurile Milroy și Meige) este o tulburare autozomală cu transmitere dominantă.

f) SINDROAME COMPLEXE CU MALFORMAȚII ALE INIMII

— Sindromul Kartagener evoluează cu dextrocardie.

— Sindromul Holt-Oram evoluează cu defect de sept atrial.

— Sindromul Ellis-van Creveld, cu mutație monogenică, se asociază cu *atrium unicum*.

g) DIVERSE

— Sindromul Werner, cu transmitere autozomal-recesivă, se caracterizează prin îmbătrînire precoce, diabet zaharat, cataractă, stenoză calcificată a aortei și arteriopatii periferice care duc frecvent la amputații.

— Hipertensiunea pulmonară.

— Amiloidoza familială.

— Hipertrofia ventriculară (stenoză musculară subaortică și stenoză aortică supravalvulară).

— Fibroelastoza endocardică.

— Miocardiopatia familială idiopatică.

În acest grup, gena mutantă este o genă care determină o substanță sau un proces cu semnificație largă și nu s-a putut încă evidenția, pentru fiecare tulburare ivită, o modificare specifică în genă sau cromozomi. În unele cazuri (hipertrofie ventriculară, fibroelastoză etc.) de fapt, acțiunea genei mutante se limitează numai la nivelul inimii, neinteresînd alte țesuturi sau organe. S-a observat că în anumite familii, aceste anomalii survin cu o frecvență mai mare decît în mod obișnuit (14). În cazuri sporadice, deseori datorită condițiilor din viața intrauterină, aceste anomalii pot apărea în asociere cu alte modificări, cu alte anomalii congenitale.

Pe lîngă problemele de diagnostic în care, după cum am văzut, se face apel la variate metode de investigație, originea genetică a unei boli cardiovasculare ridică și probleme de tratament și prognostic. Dacă pentru unele dintre aceste afecțiuni există posibilități terapeutice chiar în etapa actuală (tratamentul chirurgical al defectelor existente), pentru altele însă există doar încercări de tratament și mai ales speranța că într-un viitor nu prea îndepărtat se va reuși o intervenție activă și în reglementarea informației genetice și a transmiterii ei.

O mare problemă o constituie, în etapa actuală, sfatul genetic. „Am o cardiopatie congenitală. Am fost operat și mă simt bine. Doresc să am copii. Pot avea copii?“ Iată numai un aspect din multiplele întrebări ridicate de bolnavi cu anomalii cardiovasculare moștenite sau congenitale, și care așteaptă un răspuns din partea medicului, din partea specialistului. Răspunsul variază de la caz la caz și este în funcție, în primul rînd, de felul anomaliei genetice și de caracterul ei de transmitere. Dar, desigur că mai intervin și alți factori în fiecare caz în parte și de aceea răspunsul necesită bune cunoștințe și în acest domeniu al medicinei.

BIBLIOGRAFIE

1. Morton W. F., Huhn L. A. — *J. Amer. med. Ass.*, 1966, 195, 1 107—1 110.
2. Higgins I. T. T. — *J. Chron. Dis.*, 1965, 18, 699—721.
3. Campbell M. — *Brit. med. J.*, 1965, 2, 895—904.
4. Zăgreanu I., Rădulescu D. — Răspîndirea cardiopatiilor congenitale în funcție de factorii din mediul extern, Comunicare la Conferința interregională de cardiologie, Cluj, 1961.
5. Shaws R. F. — *Lancet*, 1965, 2, 519—524.
6. Record R. G., McKeown T. — *Brit. Heart J.*, 1953, 15, 376—386.
7. Jackson B. T. — *New Engl. J. Med.*, 1968, 279, 1, 25—29.
8. Campbell M. — *Brit. Heart. J.*, 1963, 25, 803—813.
9. Penrose L. S. — *Lancet*, 1955, 2, 312—314.
10. Johnson J. L. — *Arch. Pediat.*, 1961, 78, 253—268.
11. Nora J. J., McNamara D. G., Frazer F. C. — *Circulation*, 1967, 35, 448—456.
12. Emerit I., de Grachy J., Vernont P., Corone P. — *Circulation*, 1967, 36, 886—905.
13. Thompson H. — *Amer. J. Med. Sci.*, 1965, 250, 718—734.
14. McKusik V. A. — *Circulation*, 1964, 30, 326—340.

Capitolul al XII-lea

ASPECTE EREDITARE ALE BOLILOR CARDIOVASCULARE COMUNE

I. N. Boeriu

Problema definirii bazei genetice a bolilor cardiovasculare comune — adică a precizării măsurii în care variația riscului individual de a dobîndi o asemenea boală este condiționată de materialul ereditar dobîndit la concepție — este mult mai dificilă și mai complexă decît în cazul bolilor rare. Nu trebuie să ne așteptăm să descoperim baza ereditară a bolilor comune (adică a celor care survin cu o probabilitate de cel puțin 1% într-un mediu dat) în vreo anomalie specifică a unor gene izolate. Diferențele individuale în susceptibilitatea de a dobîndi o asemenea boală — în măsura în care sînt moștenite — sînt datorite unui mare număr de gene. Datorită complexității organismului și ținînd seama de faptul că activitățile metabolice se înlănțuie și se intrică între ele, ne putem aștepta ca aproape fiecare genă să aibă oarecare influență aproape asupra fiecărei activități. De aceea, metodele de analiză genetică utilizate cu eficiență așa de mare în studiul bolilor rare nu dau în mod necesar rezultate semnificative în cercetarea bolilor comune.

Pentru o privire de ansamblu asupra importanței relative în patogeneză a factorilor genetici și de mediu este utilă schema cunoscută care cuprinde toate bolile într-un spectru continuu, la un capăt al căruia (G) domină factorii genetici, iar la celălalt (M), cei de mediu (22, 29) (fig. XII, 1). Spre capătul G se situează bolile rare, de regulă monogenice; în zona de mijloc și spre extremitatea M trebuie să plasăm bolile complexe și aproape sigur poligenice, adică în care operează factori genetici multipli. Utilizarea cu un înțeles apropiat a termenului multifactorial are două îndreptățiri: factorii ereditari nu trebuie să fie numai gene izolate, pot fi și grupe de gene sau, din contra, subdiviziuni ale genelor, dacă nu chiar factori citoplasmatici sau alții încă necunoscuți; pe de altă parte, analiza aplicată acestor boli trebuie să lase totdeauna loc și factorilor negenetici, de mediu.

În studiul tulburărilor genetice de la un capăt sau de la celălalt al spectrului, problemele care se pun sînt diferite. Spre extremitatea G se discută amănunte de genetică formală, natura precisă a defectului de bază etc. Spre capătul M, prima întrebare trebuie să fie: există o contribuție genetică semni-

ficativă în patogeneză? Iar a doua întrebare, decurgînd din prima: prin ce mecanisme contribuie factorii genetici la patogeneză?

Noţiunea determinării genetice parţiale are semnificaţie numai dacă este definită în mod adecvat şi chiar şi atunci este relevantă numai pentru mediul în care s-au făcut observaţiile.

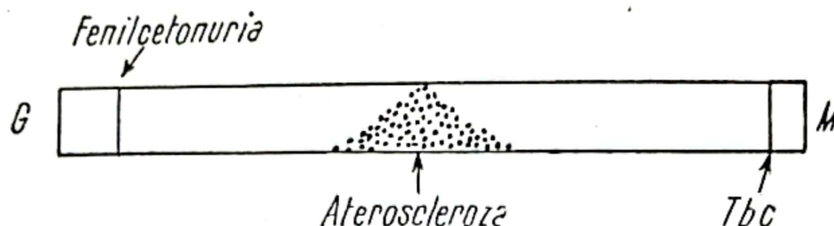


Fig. XII, 1. — Reprezentarea schematică a locului pe care îl ocupă bolile în raport cu importanţa relativă a factorilor genetici (G) şi de mediu (M) în patogeneză (după 22, 20).

Cunoştinţele noastre asupra aspectelor patologice ale geneticei umane sînt foarte limitate atît prin sărăcia datelor privitoare la structura genetică a populaţiei umane, cît şi din cauza dificultăţilor teoretice pe care le implică asemenea studii. Totuşi, nu este lipsită de interes o scurtă trecere în revistă a celor mai frecvente boli cardiovasculare, îndeosebi pentru a le situa într-o perspectivă corectă din acest punct de vedere.

REUMATISMUL ACUT ŞI CARDIOPATIILE REUMATISMALE

Încă nu se poate explica în mod satisfăcător de ce numai un număr relativ mic de persoane se îmbolnăvesc de reumatism acut după infecţii streptococice din grupul A, în timp ce majoritatea rămîn indemne. Nu există nici o dovadă că acest fapt ar fi în legătură cu proprietăţi „reumatogene" diferite ale vreunuia din cele 50 de tipuri serologice ale streptococilor din grupa A sau cu particularităţi ale enzimelor şi toxinelor extracelulare. Anumiţi factori ai gazdei trebuie să joace un rol principal.

Incidenţa familială crescută a reumatismului acut este binecunoscută. Un studiu recent al familiilor cu mai mult de un copil cu reumatism acut (43), care a arătat că fraţii tind să aibă aceleaşi manifestări clinice şi sechele cardiace, aduce noi argumente în sprijinul rolului factorilor genetici. Totuşi, eforturile făcute spre a găsi o marcă genetică comună au dus la constatări contradictorii. Rezultatele unor cercetări recente (13) nu confirmă — cum s-a pretins — că există o asociere între grupa sanguină 0 şi predispoziţia la cardiopatii reumatismale, dar au dovedit asocierea între caracterul nonsecretor şi reumatismul acut, în sensul unui exces semnificativ cînd numărul scontat este bazat pe frecvenţa parentală a genelor.

Ipoteza potrivit căreia copiii din familiile reumatice ar avea o susceptibilitate crescută la infecţii streptococice a fost infirmată de cercetări (38) care au arătat că nu există nici o diferenţă în incidenţa infecţiilor streptococice şi procentul de purtători printre fraţii copiilor reumatici şi populaţia de control. Este în schimb dovedit că persoanele care fac reumatism acut după

infecţii streptococice netratate sînt de obicei cele care prezintă o creştere marcată a anticorpilor antistreptococici (streptocociile cutanate, care provoacă doar un răspuns imun uşor, foarte frecvente la copii, declanşează rar sau niciodată reumatismul acut). Ceea ce rămîne însă de explicat este mecanismul hiperreactivităţii imunologice faţă de antigenele streptococice. Titrurile ridicate de anticorpi antistreptococici, nivelurile crescute ale imunoglobulinelor (γ-1 A, γ2-globuline, rareori γ-1 M), lipsa bolii la agammaglobulinemia ereditară etc. sînt dovezi tot mai numeroase care pledează pentru faptul că boala poate fi rezultatul unui proces imunopatologic.

Totuşi, cu toată acumularea de cunoştinţe asupra biologiei streptococului şi asupra răspunsurilor imune ale gazdei, precum şi descoperirea antigenelor pe care le au în comun (de exemplu, reacţii încrucişate cu miocardul uman şi cu glicoproteine ale valvulelor cardiace), nu ne putem încă explica în mod satisfăcător de ce streptococul ubicvitar iniţiază procesul patologic numai la unele persoane.

HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ

Nici clinicienii şi nici epidemiologii şi geneticienii nu par să pună la îndoială faptul că hipertensiunea arterială esenţială are o incidenţă familială crescută şi că aceasta este în mare parte determinată genetic. Cercetări familiale (părinţii, copiii şi fraţii hipertensivilor au valori tensionale în medie mai ridicate decît rudele normotensivilor şi mor mai des de complicaţiile tipice ale bolii hipertonice), compararea gemenilor mono- şi dizigoţi, ca şi a diferitelor grupe rasiale şi chiar unele cercetări experimentale au adus numeroase dovezi pentru caracterul ereditar al hipertensiunii arteriale. În consecinţă, considerarea hipertensiunii esenţiale ca o boală cu o componentă ereditară importantă a cîştigat şi o valoare de diagnostic, contribuind la diferenţierea ei de alte forme de hipertensiune.

Prelucrarea statistică a unui material foarte bogat pare să arate însă că factorul ereditar este prezent şi la unele forme ale hipertensiunii renale (de exemplu, în 40% din cazurile de stenoză a arterei renale s-a constatat o anamneză familială pozitivă) (5).

Dacă datele de acest fel sînt neîndoielnice şi concordante, numeroase întrebări privind contribuţia relativă a eredităţii şi a mediului în determinarea hipertensiunii, precum şi natura mecanismului ereditar îşi aşteaptă încă răspunsul. Aceste probleme sînt departe de a fi numai de un interes pur academic. De elucidarea lor va depinde fără îndoială şi răspunsul la întrebările care îşi păstrează şi astăzi actualitatea: ce este hipertensiunea esenţială şi dacă este ea o unitate etiologică şi patogenetică? Răspunsul la aceste întrebări are nu numai o valoare principială, ci el va influenţa şi metodologia de cercetare a mecanismelor de bază ale acestei boli.

Înaintea lucrărilor lui G. W. Pickering, hipertensiunea esenţială era considerată ca o entitate distinctă, o caracteristică patologică în raport cu care persoanele puteau fi clasate „plus sau minus“, afectate sau neafectate. G. W. Pickering şi colab. (32, 33) — şi ulterior alţi autori (6, 30) — au demonstrat că tensiunea arterială descrie o distribuţie de frecvenţă continuă care este uni-

modală și că nu este evidentă nici o separare într-o clasă hipertensivă și una normotensivă. Din aspectul gaussian, de variabilă distribuită „normal", G. W. Pickering deduce că nivelul tensiunii arteriale al unei persoane este o caracteristică cantitativă, determinată de o varietate de factori dintre care nici unul nu este dominant, este deci o trăsătură multifactorială, comparabilă cu statura, inteligența, refracția oculară etc. Această ipoteză are o semnificație biologică profundă: ea implică faptul că nu există o distincție netă între normal și anormal, ci o gradație continuă, de la bine adaptat la rău adaptat. Nu se moștenește deci hipertensiunea arterială, ci tindem să moștenim un anumit nivel al tensiunii arteriale. Persoanele considerate ca suferind de hipertensiune esențială sînt cele a căror tensiune arterială se situează la capătul superior al distribuției continue în formă de clopot. De aici pînă la a spune „hipertensiunea esențială nu este o boală" desigur că nu a fost decît un pas (în realitate, G. W. Pickering admite că este o boală, prin consecințele pe care le antrenează; el contestă doar că este o unitate morbidă, cu o singură cauză).

În ceea ce privește determinarea genetică, ea este de natură poligenică și nu este deci susceptibilă de interpretare în termenii simplei dominanțe sau recesivități mendeliene. Unii urmași primesc o parte mai mare din genele care favorizează tensiunea arterială înaltă, avînd astfel tendința la valori crescute la toate vîrstele. În cazul tensiunii arteriale foarte înalte (ca în hipertensiunea malignă sau cea benignă severă), este probabil că atît componentele moștenite, cît și cele de mediu sînt neobișnuit de mari.

Este de presupus că factorii genetici multipli operează fiecare printr-un mecanism diferit pentru a influența tensiunea arterială. Cu toate speranțele că se vor putea defini multe sau chiar toate mecanismele, perspectivele sînt, evident, mai puțin încurajatoare decît dacă analiza genetică ar sugera moștenirea unifactorială și deci un defect biochimic unitar.

Spre deosebire de această concepție, R. Platt (34, 35, 36) și alți autori (29) ajung la concluzia că de fapt se pot demonstra două populații distincte în privința tensiunii arteriale și că există o bimodalitate a curbelor de distribuție, compatibilă cu existența unui singur factor genetic major în etiologia hipertensiunii esențiale. Problema nivelului-limită care ar permite distincția între hiper- și normotensiune R. Platt a rezolvat-o tot prin bimodalitatea curbelor: dacă se consideră antimodul drept prag pentru hipertensiune în grupul 45—60 de ani, atunci valoarea 160—95 mm Hg devine limita de la care începe hipertensiunea la această vîrstă. R. Platt deduce că la persoanele hipertensive creșterea tensiunii arteriale cu vîrsta nu este liniară. Studierea rudelor trebuie deci făcută la frați și surori și nu la părinți și copii, deoarece copiii pot fi prea tineri, iar părinții afectați pot fi probabil decedați.

Un asemenea studiu al distribuției de frecvență a tensiunii arteriale sistolice la frații și surorile unor bolnavi cu hipertensiune esențială arată că pe măsură ce urmărim grupele de vîrstă succesive, graficele prezintă două trăsături importante: apariția unei proeminențe care spre 40 de ani este mai evidentă la tensiunea arterială cu valori de 160 mm Hg și dezvoltarea unei proeminențe la capătul înalt al curbei, în afara oricărei distribuții normale, gaussiene. Efectul acestor două particularități este un fel de distribuție neregulată, trimodală, care se observă mai bine pe graficele separate pentru bărbați și femei la vîrstele de 45—59 de ani (fig. XII, 2).

Mecanismul genetic pe care îl propune R. Platt mai recent (36) este acela al acțiunii unei singure gene, cu dominanță incompletă și o frecvență de aproximativ 0,24, care, în forma homozigotă, dă naștere la hipertensiune severă și în forma heterozigotă la o creștere moderată a tensiunii arteriale. Presupunînd că frecvența hipertensiunii severe la femei între 45 și 60 de ani este de 6% și dacă admitem că ea se datorește unei gene incomplet dominante de acest tip, ne putem aștepta ca cele trei fenotipuri (tensiunea arterială normală, hipertensiune moderată și hipertensiune severă) să survină la frați în proporțiile respective de 14, 47 și 38%. Utilizînd aceste proporții se pot face curbe ipotetice care reprezintă distribuții foarte apropiate de cele din figura XII, 2 cu deosebirea că numărul cazurilor la valorile înalte este mai mic decît cel calculat. Această diferență o pot explica decesele prin boală hipertensivă la această vîrstă. În populația generală, proporțiile ar fi 0,58; 0,36, 0,06 (admițînd distribuția normală p^2; $2pq$; q^2). Astfel, hipertensiunea severă ar fi de 6 ori mai frecventă la frații hipertensivilor severi. Este de remarcat că o asemenea curbă nu se poate construi nici pe baza unei gene pur dominante, nici a moștenirii multifactoriale. Această teorie ar putea explica faptul că deși unii frați moștenesc o tensiune arterială înaltă, similară cu a bolnavului, majoritatea moștenesc numai o creștere moderată a tensiunii arteriale. În ceea ce privește efectul selecției naturale, aceasta tinde să elimine o asemenea genă la persoanele mai tinere, dar o afectează mult mai lent sau chiar deloc în anii postreproductivi. Nu este exclus ca heterozigotul să aibă chiar un avantaj oarecare, încă nedeterminat.

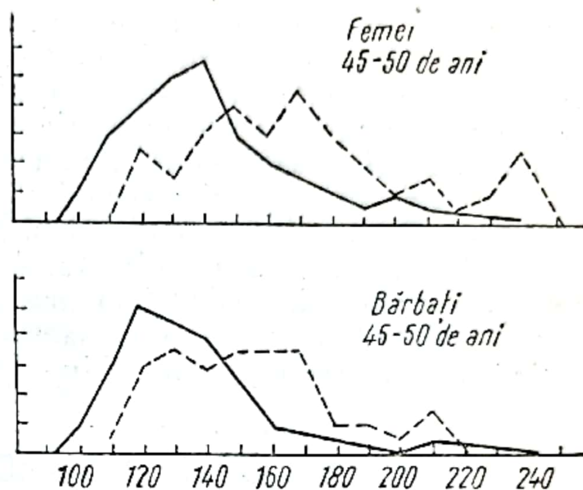


Fig. XII, 2. — Distribuția de frecvență a tensiunii arteriale sistolice la frații și surorile hipertensivilor (----------), comparativ cu populația generală (————) (După 36).

Chiar și în această nouă formă, teoria unigenică nu poate fi decît ipotetică (fapt pe care îl recunoaște și R. Platt) (36) și probabil că va fi modificată în lumina experienței viitoare. Contribuția cea mai importantă o vor aduce studiile longitudinale, de lungă durată, pe populații cît mai omogene în privința fondului rasial și a împrejurărilor de mediu. Cercetările longitudinale la frații și copiii hipertensivilor vor avea de asemenea o mare valoare. S-au putut aduce destule obiecții ipotezei lui R. Platt, Morrison și Morris: numărul insuficient de cazuri, un factor psihologic în măsurarea tensiunii arteriale, tendința de a evita valorile incerte și chiar că bimodalitatea descendenților nu ar fi incompatibilă cu ipoteza poligenică (17).

Greutatea argumentelor pare să încline balanța mai mult în favoarea ipotezei poligenice. Această controversă rămîne însă una dintre cele mai exemplare (expunerea exactă a datelor, dînd posibilitatea de a fi prelucrate și de alții, eventual de a fi incluse în altă ipoteză etc.) și mai stimulatoare din

istoricul problemei. În orice caz rămîne de elucidat natura factorilor genetici implicați. Chiar admițînd baza poligenică a tensiunii arteriale, merită să se facă eforturi în continuare spre căutarea diferențelor individuale determinate genetic și care au însemnătate pentru nivelul tensiunii arteriale. Ar putea fi vorba de anomalii biochimice, dar și de anumite devieri morfologice sau funcționale de la normal în teritoriul arteriolar sau la nivelul nervilor vasomotori, care să aibă drept rezultat o funcție vasculară modificată. Creșterea tensiunii arteriale este de fapt un răspuns fiziologic la constricția arteriolelor sistemice. S-a putut arăta că hipertensiunea esențială este caracterizată prin creșterea capacității de răspuns a vaselor sanguine sistemice la stimularea prin noradrenalină (și alte substanțe vasoactive); această hiperreactivitate este de fapt cea mai timpurie manifestare a hipertensiunii esențiale și poate fi demonstrată chiar la copiii nehipertensivi ai părinților hipertensivi (9, 14). Una dintre cauzele ei ar putea fi excesul de noradrenalină liberă, datorită unui defect în mecanismul de înmagazinare a noradrenalinei (24). Vasoconstricția crescută duce la creșterea concentrației sodiului în musculatura netedă a pereților vasculari și astfel la edemul acestora, la readaptarea baroreceptorilor, la creșterea reactivității față de substanțele vasoactive etc.

ATEROSCLEROZA ȘI CARDIOPATIA CORONARIANĂ

Faptul că bolnavii aterosclerotici și îndeosebi coronarienii au deseori rude apropiate cu îmbolnăvire similară este o observație curentă, făcută demult, nu numai de clinicieni, dar și de publicul laic. O serie de cercetări (45, 11, 40) au și căutat să documenteze acest lucru. Dar față de o boală așa de comună — care chiar și numai datorită întîmplării poate coexista la mai mulți membri ai unei familii — este surprinzător că aceste cercetări sugerează o agregare familială destul de modestă. De fapt, incidența familială ar fi probabil mai ridicată dacă informațiile asupra bolii ar fi mai exacte și mai complete. Există însă cîteva obstacole majore, între care:

— insuficiența criteriilor clinice pentru a permite clasificarea fără echivoc a persoanelor cercetate;

— incertitudinea asupra diagnosticului celor decedați;

— caracteristicile de vîrstă ale bolii coronariene: o persoană de 40 de ani, considerată sănătoasă, poate fi bolnavă peste cîțiva ani, deci cel considerat astăzi control mîine poate fi caz;

— nu se poate atribui aceeași greutate deceselor, indiferent de vîrstă: de pildă nu se poate spune că un bărbat al cărui tată sau frate a decedat de infarct la 80 de ani are antecedente familiale mai încărcate decît altul al cărui tată sau frate trăiesc la aceeași vîrstă;

— decesele rudelor survenite înaintea cercetării;

— decesele prin boli intercurente etc.

Desigur că relevarea acestor dificultăți sugerează și posibilitățile metodice de învingere a unora dintre ele. Există o serie de cercetări în curs de executare, care abordează problema pe căi adecvate și care probabil că vor aduce date mai certe. Dintre datele mai valoroase comunicate în ultimii ani, merită

să fie menţionată o analiză mai elaborată a riscului de deces prin cardiopatie ischemică a rudelor de gradul I (41): sub 55 de ani la bărbaţi şi 65 de ani la femei, pentru rudele bolnavilor la care boala a apărut sub aceste vîrste, riscul este crescut de 2,5 ori pentru femeile şi de 5 ori pentru bărbaţii rude ale bolnavilor bărbaţi; de 6,5 ori pentru bărbaţii şi de 7 ori pentru femeile rude ale bolnavilor femei (la bolnavii mai tineri riscul creşte pînă la de 10 ori).

Deşi agregarea familială este considerată o condiţie *sine qua non*, prealabilă pentru orice ipoteză genetică, în sens strict chiar datele indiscutabile nu dovedesc baza genetică a unui caracter sau boli, pentru că factorii de mediu şi sociali — ca şi genele — variază de la o familie la alta. Cercetările pe gemeni diferenţiază în mod mai exact influenţa factorilor genetici faţă de cei negenetici şi — deşi comportă mai multe dificultăţi decît s-ar părea — reprezintă poate cea mai bună metodă pentru aprecierea cantitativă a rolului factorilor genetici în bolile comune. Dar multe din cercetările comunicate pînă nu demult au fost neconcludente şi criticabile; unele argumentează totuşi în mod convingător pentru existenţa unei predispoziţii genetice (cum este un studiu recent privitor la angina pectorală, care evidenţiază concordanţe care se ridică de la 2 la 9,2‰ şi de la 6,1 la 21,7‰ la gemenii di- şi monozigoţi) (7). În schimb nu există date interetnice care să poată fi interpretate cu încredere în favoarea ipotezei genetice.

Din datele disponibile asupra bolii în ansamblu, deşi incomplete, este probabil rezonabil să presupunem că atît factorii genetici, cît şi cei de mediu pot juca roluri cam la fel de importante în aterogeneză. Dacă ne referim la diagrama cunoscută, utilizată pentru a ilustra interacţiunea factorilor genetici şi de mediu în diferite boli (fig. XII, 1), localizarea exactă a aterosclerozei este incertă. Probabil că masa populaţiei este aglomerată undeva pe la mijloc. În condiţii de trai date, unele persoane pot fi localizate mai aproape de capătul G, altele mai aproape de M, datorită — s-ar putea spune — diferenţelor de penetranţă a genelor care au rol în producerea aterosclerozei.

Desigur că pentru a avea o privire de ansamblu satisfăcătoare trebuie să adoptăm concepţia cuprinzătoare care subscrie la ideea moştenirii poligenetice şi a unui determinism multifactorial în producerea bolii. Faptul că această privire generală este uşor de acceptat şi că nu riscă să fie contrazisă de fapte sau de argumente teoretice nu trebuie să descurajeze eforturile tenace de cercetare, care sînt îndreptate în două direcţii: pe de o parte în sensul aprecierii în modul cel mai exact posibil al contribuţiei reale a predispoziţiei genetice şi a influenţelor de mediu şi pe de altă parte, spre descoperirea unui defect sau, mai exact, a unor defecte metabolice de bază, răspunzătoare în esenţă de producerea bolii. Dintr-un punct de vedere mai practic, s-ar avansa astfel pe calea lămuririi problemei importante a cunoaşterii şi aprecierii frecvenţei unei prezentări mai puţin floride şi mai puţin dramatice a unui factor genetic, care influenţează susceptibilitatea la cardiopatia coronariană.

Referitor la analiza componentelor patogenetice metabolice, majoritatea cercetărilor au fost centrate pînă acum asupra colesterolului seric şi a celorlalte lipide, deşi sînt tot mai multe dovezi că ateroscleroza este în legătură cu mai mult decît un singur defect metabolic. A existat chiar tendinţa, exage-

rată, de a echivala genetica bolii coronariene cu genetica hipercolesterolemiei. De-abia în ultimul timp, cîmpul cercetărilor se lărgeşte şi spre alte domenii.

În ceea ce priveşte colesterolul, prima întrebare care se pune este: au factorii genetici semnificaţie în determinarea nivelului colesterolemiei? Cercetări variate, corelaţii intrafamiliale, studii pe gemeni etc. au dat un răspuns afirmativ. Iar forma distribuţiilor, ca şi liniaritatea curbelor de regresie obţinute sugerează că nivelul colesterolului seric se conformează unui mod multifactorial de determinare şi că baza genetică este poligenică (facem abstracţie pentru moment de unele hiperlipidemii familiale, dependente de o singură genă majoră şi asupra cărora vom reveni). Cercetările care au urmărit variabilitatea aglomerărilor familiale după vîrstă au dat indicii importante asupra rolului factorilor genetici şi de mediu în determinarea nivelului colesterolului seric. S-a arătat astfel (8) un grad apreciabil de asemănare între fraţi sub vîrsta de 16 ani, care se presupune că împărtăşesc în mare măsură acelaşi mediu. Asemănarea scade între 14 şi 40 de ani, cînd mediul variază mai mult şi ea creşte din nou după 40 de ani, sugerînd o accentuare a factorilor genetici la vîrsta medie şi înaintată. Se postulează că ea s-ar datori creşterii, la vîrstele mai înaintate, a penetranţei genelor implicate. Aceste constatări au putut fi explicate şi în termenii unui model teoretic. Două aspecte ale acestuia merită să fie relevate, fiind semnificative pentru problema în discuţie: faptul că nivelul unei variabile este determinat în mod fundamental prin factori genetici, dar poate fi modificat prin mediu şi deducţia că o expresivitate crescută a genelor relativ tîrziu în viaţă face mai dificilă modificarea prin factori de mediu.

Aceste constatări pot avea şi implicaţii practice, privitoare la posibilitatea aprecierii riscului de a avea în viitor o valoare crescută a unei variabile care predispune la coronaroscleroză (posibilităţile de prevedere a dobîndirii cardiopatiei coronariene sînt mai mari decît la alte boli, nu numai statistic, pe grupuri, dar şi în termeni de probabilităţi cantitative). Astfel, înainte de 40 de ani, valorile constatate par să nu constituie o bază potrivită pentru prevederea evoluţiei ulterioare, deoarece fiind, probabil, supuse unor influenţe de mediu, ele nu sînt în mod necesar în relaţie cu valorile care survin la o vîrstă mai înaintată, cînd expresia genetică devine complet operativă. Deci, cunoaşterea nivelului unei variabile asociate cu ateroscleroza la o persoană de vîrstă tînără nu permite totdeauna prezicerea valorilor ei la vîrsta medie şi avansată. Desigur că aceste deducţii sînt încă în parte ipotetice şi pentru verificare sînt necesare cercetări prospective, pe termen lung, de altfel în curs de efectuare. Ele concordă însă cu presupunerea justificată de cunoştinţele actuale că în ultimă analiză expresia genotipului depinde de interacţiunea lui cu factorii de mediu.

Unul dintre motivele pentru care cercetările metabolice în ateroscleroză au dus adesea la rezultate neconcludente şi uneori controversate este că pînă de curînd s-au făcut relativ puţine eforturi pentru a clarifica hiperlipidemiile întîlnite în clinică şi a identifica tulburările metabolice asociate. S-a pus accentul mai mult pe concentraţii decît pe alteraţiile biochimice şi pe implicaţiile metabolice ale lipoproteinelor plasmatice. Unul din rezultatele cele mai interesante şi mai pline de perspectivă ale cercetărilor din ultimii ani este demonstrarea sensibilităţii crescute faţă de hidraţii de carbon simpli, pe care o prezintă marea majoritate a bolnavilor aterosclerotici (18, 19).

Ea se manifestă adesea prin hiperprebetalipoproteinemie. Tot mai multe dovezi vin în sprijinul ipotezei unei tulburări în metabolismul hidraţilor de carbon ca un factor etiologic importnat în ateroscleroza umană. Spre deosebire de diabetul adevărat, această formă specială de tulburare metabolică este caracterizată iniţial printr-o exagerare a activităţii lipogenice endogene şi de obicei nu se manifestă printr-o toleranţă la glucoză scăzută. Datele preliminare sugerează că această tulburare fiziopatologică este iniţiată şi susţinută printr-un mecanism insulinic anormal, cu creşterea insulinei plasmatice şi niveluri de activitate insulinsimilare anormale (19). Se conturează astfel ipoteza existenţei în ateroscleroza umană a unei anomalii (determinate genetic şi putînd fi influenţată prin factori de mediu) a producţiei endogene de insulină şi a metabolismului ei. Este posibil ca această tulburare metabolică să lege ateroscleroza şi hiperlipidemia (incluzînd colesterolul, trigliceridele şi alte lipide serice), obezitatea, diabetul şi poate unele arteriopatii ocluzive fără o cauză evidentă într-o trăsătură genetică comună (20). Cercetările clinice şi epidemiologice ale lui A. Moga şi colab. (26, 27, 28), au adus încă de mulţi ani argumente statistice pentru fondul ereditar comun al acestor boli.

În termeni mai generali putem admite că o capacitate limitată sau epuizarea rapidă a căilor metabolice de care dispune organismul pentru hidraţii de carbon şi grăsimile ingerate sînt determinate genetic. O asemenea concepţie ar putea explica variaţia individuală mare a testelor biochimice, la niveluri comparabile de supranutriţie. Acţiunea sinergică a factorilor ereditari şi a unor influenţe de mediu probabil că creează condiţii favorabile pentru dezvoltarea mai accelerată a aterosclerozei la unele persoane.

S-au adus argumente pentru determinismul genetic şi al altor factori implicaţi în ateroscleroză, cum este deficitul de lipoproteinlipază (42, 37): scăderea activităţii lipolitice ar priva peretele vascular de un mecanism de apărare. Alte cercetări caută să evidenţieze diferenţe familiale în variatele aspecte ale coagulării sanguine şi ale economiei plachetare (index de adezivitate, durată de viaţă etc.). Răspunsurile de reparare a ţesuturilor lezate pot fi de asemenea sub controlul eredităţii. În sfîrşit, constituţia corpului, obezitatea etc. sînt în relaţie cu predispoziţia la boala coronariană, ca şi anumite caracteristici emoţionale, care pot fi, cel puţin în oarecare măsură, înnăscute. Desigur că o asemenea înşirare se poate uşor lungi şi poate fi prilej de multe ipoteze speculative. Pentru progres este necesară în primul rînd acumularea de fapte certe.

Trebuie menţionat încă un factor, de alt ordin, care este posibil să se dovedească mai semnificativ decît s-a putut aprecia pînă acum: variaţiile în anatomia arterelor coronare, care probabil că au o bază genetică şi astfel pot fi expresia unuia din factorii ereditari în boala coronariană. Diferenţele atît în arborizaţiile mari, cît şi în anastomozele intercoronariene pot explica vulnerabilitatea crescută a arborelui coronarian la efectele aterosclerozei. Observaţiile mai vechi (39), indicînd o relaţie între infarctul miocardic şi tipul arborizaţiei coronariene, n-au fost urmate de date concludente. Constatarea recentă (3) a unor diferenţe semnificative în distribuţia de frecvenţă a diferitelor tipuri anatomice la tulpini diferite de animale (şobolani) sînt o dovadă a rolului factorului genetic, probabil prin mecanism poligenic. La om se vor putea aduce noi argumente, prin cercetări angiografice mai extinse (inclusiv la gemeni).

Asemenea variații anatomice moștenite pot fi unul din factorii ereditari importanți în determinarea susceptibilității sau rezistenței la ateroscleroză coronariană și infarct miocardic. Variantele anatomice pot crea condiții hemodinamice care favorizează dezvoltarea trombozelor și a ateroamelor (44). În schimb, prezența unei artere coronare primare adiționale sau a unei ramuri principale pot servi ca sursă potențială de circulație colaterală. Incidența scăzută a infarctului miocardic la negrii Bantu este posibil să aibă această bază (31).

În cadrul tulburărilor metabolice, grupul hiperlipidemiilor familiale, în care anomalia lipoproteinică apare ca expresia primară a unui defect biochimic, merită o mențiune aparte din două motive: caracterul ereditar mult mai evident al acestora și relația particulară cu aterogeneza și boala coronariană.

Pentru cunoașterea lor și pentru cercetările clinice este necesară aprecierea cel puțin aproximativă a 4 grupe de lipoproteine, care se știe că sînt în legătură cu procese metabolice independente și deci care este posibil să fie expresia unor anomalii genetice specifice: α- și β- lipoproteinele solubile și 2 grupe de lipoproteine care transportă gliceridele de origine exogenă sau alimentară (chilomicronii) și pe cele de origine endogenă (prebetalipoproteinele). Cu ajutorul lor s-a putut face o clasificare practică în 5 tipuri distincte (12). Nu este exclus ca fiecăruia din aceste fenotipuri să-i corespundă un genotip diferit, deși este mai probabil ca numărul tipurilor care se disting prin această metodă să fie prea mic pentru numărul de mutații posibile care se mai pot eventual descoperi. Acest sistem de clasificare, desigur provizoriu, de etapă, este însă util nu numai clinicianului, pentru orientarea practică, ci și geneticianului, căruia îi oferă o bază mai sigură de studiu, de la care genotipizarea se mai poate extinde.

Tipul I sau hiperlipemia indusă de grăsimi (rară în forma ei severă) se caracterizează prin chilomicronemia masivă la orice ingestie de grăsimi și se descoperă adesea în copilărie prin hepatosplenomegalie, xantoame eruptive, dureri abdominale etc. Este datorit unei doze duble a unei rare alele anormale.

Tipul al II-lea sau hipercolesterolemia familială esențială este caracterizat prin concentrația ridicată de β-lipoproteine și xantomatoză pronunțată. Ateromatoza este accelerată, boala coronariană apare la o vîrstă mai tînără și comportă o mortalitate ridicată (16), cu toată trigliceridemia normală. Modul de moștenire nu este precizat cu certitudine, dar sînt indicii că acest sindrom poate fi expresia unei singure gene, cu o frecvență relativ mare în multe părți ale lumii. O doză dublă din gena anormală duce probabil la expresia mai devreme a unei xantomatoze severe.

În tipul al III-lea sau hiperbeta- și prebetalipoproteinemia familială sau așa-zisa hipercolesterolemie familială cu hipertrigliceridemie se întîlnesc frecvent atît xantomatoza și cardiopatia ischemică, cît și o toleranță anormală la glucide (diabet ușor). Acest tip este încă incomplet lămurit din punct de vedere genetic și metabolic. Se emite ipoteza că s-ar putea datori adăugirii unei „gene diabetice" la genotipul tipului al II-lea. În acest caz, tipul al II-lea ar trebui să fie de 3—4 ori mai frecvent.

În tipul al IV-lea sau hiperprebetalipoproteinemia familială se constată — ca și în tipul al III-lea — o sensibilitate la ingerarea de hidrați de carbon și se poate întîlni un istoric familial de diabet. Diferențierea acestui tip de alte

sindroame, cît şi relaţia lui cu diabetul sînt încă obiect de cercetare, al cărei interes rezidă în predispoziţia spre boală coronariană la bărbaţii tineri pe care o revelează (fapt sugerat şi de analize mai amănunţite ale lipidelor serice (1).

Tipul al V-lea sau hiperchilomicronemia şi hiperbetalipoproteinemia familială reprezintă un aspect complex care sugerează predominanţa unor defecte în metabolismul gliceridic atît exo-, cît şi endogen. El poate fi expresia genotipurilor menţionate, eventual combinate, sau a altor mutaţii. Modul de transmitere nu este încă precizat.

Sistematizări de genul acesteia reprezintă tendinţa de identificare a anomaliilor ereditare prin defectele lor biochimice primare, mai curînd decît prin manifestările lor superficiale.

Din cele de mai sus rezultă în mod evident că studiul factorilor genetici într-o boală comună ca ateroscleroza şi boala coronariană este foarte dificil. Metodele de cercetare n-au ţinut pasul cu cele din alte domenii ale geneticei umane.

Privite în perspectivă însă, problemele par că încep să aibă soluţii. Acestea se conturează îndeosebi în două direcţii principale: pe de o parte spre cercetările prospective, sistematice, de lungă durată, care sînt promiţătoare datorită acumulării rapide de cazuri noi (la o frecvenţă globală de 5%, incidenţa anuală este de aproximativ 1,5%) iar pe de altă parte, interesul principal se îndreaptă mai puţin spre descoperirea în familii a formelor avansate de boală şi mai mult spre aglomerarea familială a factorilor predispozanţi şi a defectelor metabolice fundamentale.

Descoperirea cît mai devreme posibil a predispoziţiei la dezvoltarea ulterioară a bolii manifeste constituie în acelaşi timp baza unor măsuri profilactice eficace.

BIBLIOGRAFIE

1. Albrink M. J., Meigs J. W., Man E. B. — *Amer. J. Med.*, 1961, 31,
2. Bauer J. — *Dtsch. med. Wschr.*, 1964, 89, 264.
3. Bloor C. M., Leon A. S., Pitt B. — *Circulation*, 1967, 36, 771.
4. Bock K. D. — *Dtsch. med. Wschr.*, 1961, 87, 743.
5. Bock K. D. — *Internist*, 1968, 9, 86.
6. Boe J., Humerfelt S., Wederwang F. — *Acta med. scand.*, 1957, 157, 1.
7. Cederlöf R., Friberg L., Jonsson E. — *Arch. Environm. Hlth*, 1967, 14, 397.
8. Deutscher S., Epstein F. H., Kjelsberg M. O. — *Circulation*, 1966, 33, 911.
9. Doyle A. E., Frazer J. R. E. — *Lancet*, 1961, 2, 509.
10. Epstein F. H. — *Amer. Heart. J.*, 1964, 67, 445.
11. Epstein F. H., Kjelsberg M. O. — Genetics and the Epidemiology of Chronic Diseases, edit. J. V. Neel, M. W. Shaw, W. J. Schull, Public Health Service Publication, Washington, D. C., 1965.
12. Fredrickson D. S., Lees R. S. — *Circulation*, 1965, 31, 321.
13. Gershowitz H., Neel J. V. — *Acta genet. (Basel)*, 1965, 15, 261.
14. Hărăguş St., Popescu T. A., Ilea V., Olinic N. — *Med. interna (Buc.)*, 1969, 21, 37.
15. Hatch F. T. şi colab. — *Circulation*, 1966, 33, 679.
16. Jensen J., Blankenhorn D. H., Komencz V. — *Circulation*, 1967, 36, 77.

17. Keen H., Rose G. — *Lancet*, 1959, 2, 1 028.
18. Kuo P. T. — *J. Amer. med. Ass.*, 1967, 201, 87.
19. Kuo P. T., Feng L. — *Circulation*, 1967, 36, 167.
20. Kuo P. T. — *Ann. intern. Med.*, 1968, 68, 449.
21. McKusick V. A. — *Circulation*, 1960, 22, 857.
22. McKusick V. A. — *Circulation*, 1964, 30, 326.
23. McKusick V. A. — Genetics and the Epidemiology of Chronic Diseases, edit. J. V. Neel, M. W. Shaw, W. J. Schull, Public Health Service Publication, Washington, D. C., 1965.
24. Mendlowitz M., Gitlow S. E., Wolf R. L., Naftchi N. E. — *Amer. Heart J.*, 1964, 67, 397.
25. Miall W. E., Oldham P. D. — *Brit. med. J.*, 1963, 1, 75.
26. Moga A., Dobo S., Horovitz V., Rusu S. — — *Viaţa med.*, 1952, 2, 57.
27. Moga A., Pitea P., Cofaru D., Simplăceanu A. — *Stud. Cercet. Med. (Cluj)*, 1959, 2, 166.
28. Moga A., Hărăguş St., Cofaru D., Orha I. — *Stud. Cercet. Med. (Cluj)*, 1960, 1, 7.
29. Morrison S. L., Morris J. N. — *Lancet*, 1959, 2, 864.
30. Ostfeld A. M., Paul O. — *Lancet*, 1963, 1, 575.
31. Pepler N. J., Meyer B. J. — *Circulation*, 1960, 22, 14.
32. Pickering G. W. — High Blood Pressure, Churchill, Londra, 1955.
33. Pickering G. W. — *Brit. med. J.*, 1965, 2, 1 021.
34. Platt R. — *Lancet*, 1959, 2, 55.
35. Platt R. — *Ann. intern. Med.* 1961, 55, 1.
36. Platt R. — *Lancet*, 1963, 2, 899.
37. Popescu T. A., Cucuianu M., Mihu S. — *Stud. Cercet. Med.*, 1969, X, 251.
38. Quinn R. W., Federspiel C. F. — *Amer J. Epidem.*, 1967, 85, 120.
39. Schlesinger M. G. — *Arch. Path.*, 1940, 30, 403.
40. Schweitzer M. D., Clark E. G., Gearing F. R., Perera G. A. — *J. chron. Dis.*, 1963, 15, 1 093.
41. Slack J., Evans K. A. — *J. med. Genet.*, 1966, 3, 239.
42. Slack J. şi colab. — *Lancet*, 1964, 2, 1 033.
43. Spagnuolo M., Taranto A. — *New Engl. J. Med.*, 1968, 278, 183.
44. Texon M. — *A.M.A. Arch. intern. Med.*, 1957, 99, 418.
45. Thomas C. B., Cohen B. H. — *Ann. intern. Med.*, 1955, 42, 90.
46. White P. D. — *Circulation*, 1960, 22, 296.

Capitolul al XIII-lea

APORTUL GENETICII ÎN PATOLOGIA DIGESTIVĂ

O. Fodor, Stela Urcan

Importanța geneticii în medicina clinică a luat în ultimii ani o amploare din ce în ce mai mare, în bună parte drept urmare a progreselor deosebite ale geneticii biochimice. Astfel a rezultat un nou impuls pentru cercetarea mecanismelor de producere a îmbolnăvirilor și pentru dezvoltarea cunoștințelor de genetică, care poate contribui la precizarea diagnosticului, prognosticului și tratamentului. Aplicarea principiilor geneticii în gastroenterologie este cu atît mai necesară, cu cît bolile digestive cu componentă ereditară alcătuiesc un capitol care nu poate fi deloc neglijat, iar patogeneza multora dintre ele nu este încă suficient lămurită.

În ceea ce privește diagnosticul, noțiunile de genetică contribuie la recunoașterea semnelor interne în baza simptomelor exterioare care fac parte din sindromul ereditar sau intervin în recunoașterea manifestărilor timpurii, chiar preclinice, datorită antecedentelor și a aspectului familial al bolii (20). Cîteva exemple din patologia digestivă: în sindromul Peutz-Jeghers, diagnosticul poate fi sugerat de petele melanice ale mucoasei bucale, buzelor și degetelor care însoțesc această polipoză intestinală; în boala Wilson, afectarea ficatului este însoțită de manifestări neurologice și de prezența inelului cornean Kaiser-Fleischer; în cadrul icterelor, cunoașterea formelor familiale permite diagnosticul diferențial al acestora (ictere hemolitice, virale sau de altă natură). În cazul ulcerului duodenal, prezența bolii la mai multe persoane din aceeași familie poate sugera diagnosticul la unul din membrii familiei înainte de apariția ulcerației doar pe baza semnelor clinice și biologice.

Aportul geneticii în problemele de prognostic al bolilor digestive este mai redus și îmbracă un aspect particular, acela al consultației genetice, adică posibilitatea de a prevedea care este riscul ca o persoană să posede un astfel de genotip încît să transmită boala urmașilor sau să o facă el însuși mai tîrziu, sau care este posibilitatea ca într-o familie în care s-a născut un copil cu o boală ereditară, următorii să fie afectați în mod similar. Cunoașterea substratului biochimic al bolii permite în unele cazuri depistarea heterozigoților aparent sănătoși, dar purtători ai tarei ereditare. Această detectare a

heterozigoţilor este importantă nu numai pentru descoperirea genelor anormale în populaţie, ci şi pentru descifrarea mecanismelor patogenice.

Pentru a putea demonstra rolul eredităţii în producerea unei boli, studiul arborilor genealogici este absolut necesar. Incidenţa bolii printre rudele probantului trebuie să fie semnificativ mai mare decît în populaţia generală. De asemenea trebuie să se dovedească că nu factorii de mediu sînt cei responsabili pentru incidenţa crescută a bolii. Certitudinea cu care se poate susţine rolul eredităţii depinde de precizia cu care a fost exclus rolul determinant al factorilor de mediu. Bolile comune cu componentă ereditară sînt în general multifactoriale, iar factorii de mediu intervin în special în influenţarea variabilităţii şi expresivităţii bolii într-o populaţie.

În patologia digestivă pot fi întîlnite toate categoriile de boli genetice: boli caracterizate prin aberaţii cromozomiale, erori înnăscute de metabolism şi boli cu ereditate poligenică. Deşi bolile cu ereditate simplă, prin genă unică au o incidenţă foarte scăzută, luate în totalitate, împreună cu cele plurifactoriale, constituie un domeniu vast, variat şi foarte adesea obscur, care pune medicului serioase probleme. În cele ce urmează vor fi trecute în revistă doar acele boli care prezintă un interes mai deosebit pentru practica medicală şi în care cercetările ultimilor ani au adus în discuţie probleme interesante privind mecanismele etiopatogenetice.

A. PATOLOGIA FICATULUI

Ficatul, organ cu rol cheie în procesele metabolice ale organismului, cu multiplele şi complicatele sale sisteme enzimatice, este de aşteptat să fie coafectat în numeroase erori de metabolism înnăscute. El poate fi de asemenea sediul unor malformaţii congenitale. Dintre numeroasele boli ereditare cu interesare hepatică se va insista mai ales asupra acelora în care suferinţa hepatică este în prim plan, cum ar fi hemocromatoza, boala Wilson, porfiriile hepatice, hiperbilirubinemiile şi vor fi menţionate doar în treacăt alte boli de tezaurizare, cele morfodisplazice sau alte boli generale cu interesare hepatică.

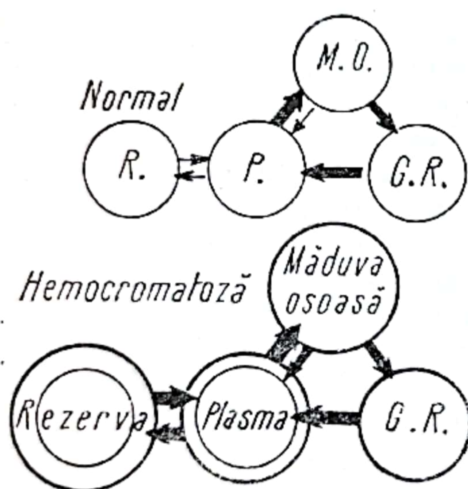


Fig. XIII, 1. Cinetica Fe în hemocromatoză [după Pollicove (24)].

Hemocromatoza primară idiopatică este o eroare înnăscută a metabolismului mineral cu absorbţie şi înmagazinare crescute de fier în organism (fig. XIII, 1). Clinic se manifestă prin ciroză hepatică cu diabet şi pigmentare cutanată (diabet bronzat). Ea trebuie diferenţiată de bolile prin tezaurizare de fier cîştigate, hemosideroze şi hemocromatoze, aşa cum rezultă din tabelul XIII, 1. Depunerile de fier sînt enorme, 26—60 g în comparaţie cu 3—5 g la adultul normal. Mecanismul responsabil pentru absorbţia crescută de fier prin mu-

Distribuţia fierului în bolile cu înmagazinare de fier
(după Scheuer şi Williams) (26)

Boala	Distribuţia fierului			
	SRE	Ficat	Extrahepatic	Leziuni tisulare
I. Hemocromatoza idiopatică	—	+	+	+
II. Depunere de fier însoţind anemia				
Sideroză asociată cu anemie				
1. Genetică	—	+	0 la +	—
2. Cîştigată	+	± la +	0 la +	—
Hemocromatoză însoţind anemia				
1. Genetică	± la +	+	+	+
2. Cîştigată	+	+	+	+
III. Depunere de fier însoţind boala Bantu				
Sideroza Bantu	+	+	—	—
Hemocromatoza Bantu	+	+	+	+
IV. Depunere de fier asociată cu ciroza hepatică				
Ciroza pigmentară	+	+	—	+
Hemocromatoza asociată cu ciroză	± la +	+	+	+

coasa intestinală nu este încă elucidat. Ar putea fi vorba de o incapacitate a celulei intestinale, determinată genetic de a forma feritina (7). Fierul absorbit circulă în mod normal, legat de fracţiunea β-globulinică, numită transferină. Este cunoscut astăzi polimorfismul transferinelor serice existînd cel puţin 17 forme (6, 31), astfel că diversele variante ar putea fi implicate în hemocromatoză, fapt încă nedovedit (19). Alţi autori presupun absenţa din sucul gastric

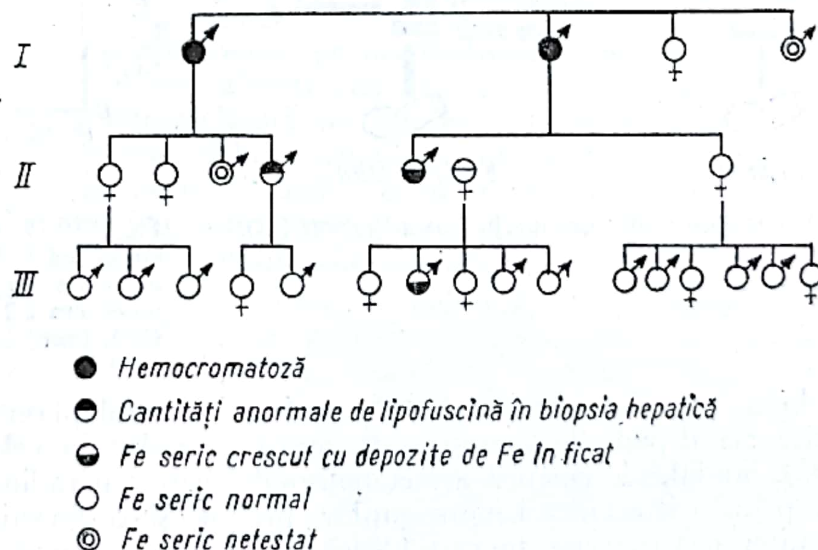


Fig. XIII, 2. Arborele genealogic al unei familii cu hemocromatoză [după Johnson şi Frey (15)].

a unei substanțe gastroferina, care în mod normal ar avea rolul de a fixa fierul, reglînd astfel absorbția sa intestinală (9, 22). Boala este de 10 ori mai frecventă la bărbați decît la femei. Caracterul familial al bolii este menționat pentru prima dată în 1922 (15) și subliniat apoi de numeroși autori (11, 23, 24, 29). Nu toți membrii unei familii prezintă tabloul clinic complet. Unii au doar semne izolate, ca hepatomegalie, pigmentarea pielii sau numai nivelurile crescute ale fierului seric sau depozite crescute de fier la biopsia hepatică (fig. XIII, 2). Majoritatea studiilor aduc dovezi care confirmă că ereditatea joacă un rol important în hemocromatoză. Boala s-ar datori mai probabil unei gene unice cu transmitere dominantă, iar prezența bolii la copii s-ar datori stării de homozigot. Gena este probabil cu penetranță largă, dar numai parțial exprimată, astfel că boala rămîne multă vreme latentă. Există și autori (17) care susțin că boala s-ar datori numai factorilor externi, ingerarea crescută de fier împreună cu alți factori predispozanți la ciroză, ca alcoolismul, malnutriția, hepatita etc. Factorul ereditar nu poate fi negat, dar e foarte probabil ca factorii de mediu să contribuie la dezvoltarea bolii la bolnavii predispuși, prin moștenirea genei, pentru hemocromatoză.

Boala Wilson sau degenerescența hepatolenticulară este o eroare înnăscută a metabolismului cuprului, asociată cu ciroză hepatică, manifestări neurologice și prezența inelelor corneene Kayser-Fleischer. Efectul primar al genei este deficitul de ceruloplasmină, proteina transportoare a cuprului. Pe lîngă nivelul scăzut al ceruloplasminei sanguine, boala se mai caracterizează prin scăderea cuprului plasmatic total, excreție crescută de cupru și depuneri foarte mari în anumite țesuturi (fig. XIII, 3). Ficatul joacă un rol dublu în

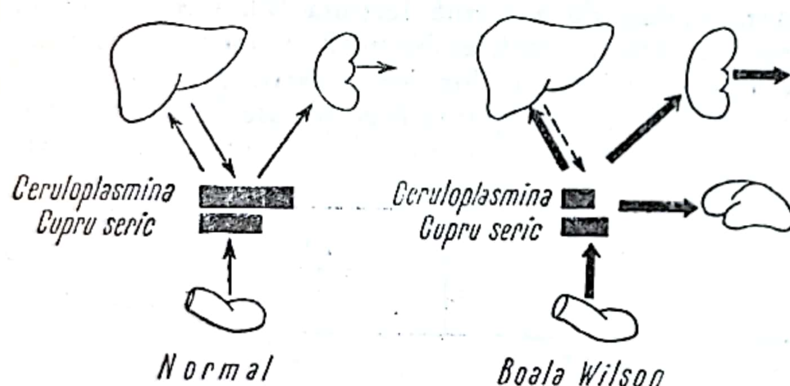


Fig. XIII, 3. Metabolismul cuprului în boala Wilson (33).

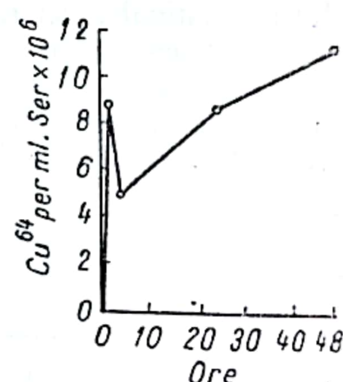


Fig. XIII, 4. Concentrațiile medii ale Cu^{64} seric la 19 persoane de control după ingerarea a 2 mg acetat de Cu^{64} [după Sternlieb (31)].

patogeneza bolii, prin incapacitatea sa de a sintetiza ceruloplasmina și prin efectele toxice ale depunerilor excesive de cupru care duc în cele din urmă la ciroză (33). Studiile de cinetică a metabolismului cuprului radioactiv administrat oral permit detectarea heterozigoților, precum și diagnosticul precoce al homozigoților pentru gena anormală încă din faza preclinică asimptomatică (fig. XIII, 4; XIII, 5; XIII, 6).

Boala este familială, transmisă recesiv. Într-o statistică pe 30 de familii în care existau 14 căsătorii consanguine s-au întîlnit 32 de cazuri (4). Boala Wilson este un exemplu elocvent al interacţiunii eredităţii şi mediului, precum şi al rezultatelor bune terapeutice care se pot obţine într-o boală ereditară. Tratamentul cu BAL şi mai ales cu penicilamină pentru mobilizarea depozi-

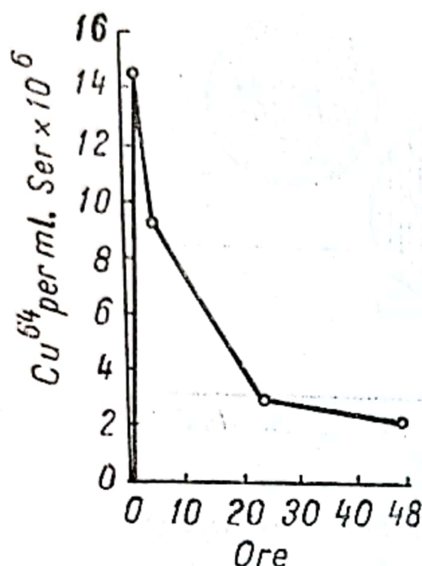


Fig. XIII, 5. Concentraţiile medii ale Cu^{64} seric la 7 bolnavi cu boala Wilson după ingerarea a 2 mg acetat de Cu^{64} [*după Sternlieb* (31)].

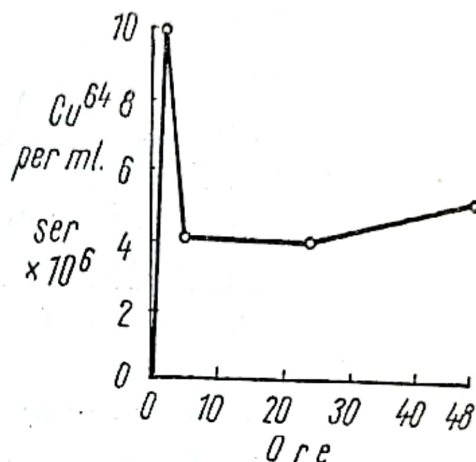


Fig. XIII, 6. Concentraţiile medii ale Cu^{64} seric la 19 heterozigoţi (părinţii bolnavilor cu boala Wilson), după ingerarea a 2 mg acetat de Cu^{64} [*după Sternlieb* (31)].

telor excesive de cupru din organism poate ajuta bolnavul să ducă o viaţă normală şi poate preveni chiar declanşarea manifestă a bolii, dacă depistarea a fost precoce (36).

Porfiriile, erori înnăscute ale **metabolismului** porfirinelor cuprind forme în care organul cel mai afectat este ficatul. Ele constituie un grup de boli a căror definire şi nomenclatură nu sînt încă definitiv stabilite. Porfiriile constituţionale, moştenite trebuie delimitate de porfirinurii, stări simptomatice cîştigate (35). În acest al doilea grup, porfirinele sînt crescute în umori secundar altei boli sau intoxicaţiilor cu plumb sau alte substanţe chimice care produc tulburări ale metabolismului nucleului pirolic.

Porfiriile hepatice ereditare se clasifică în trei tipuri: porfiria acută intermitentă sau tipul suedez, *porfiria variegata* sau tipul sud-african şi *porfiria cutanea tarda*. Acestea, la rîndul lor, trebuie deosebite de alte tipuri ereditare, cum este porfiria eritropoietică în care deşi există depozite de porfirine în multe organe, inclusiv în ficat, simptomele clinice impresionante sînt cele cutanate. Porfiriile ereditare hepatice mai trebuie diferenţiate de cele cîştigate, cum este porfiria „turcă" care s-a produs sub forma unei adevărate epidemii datorită ingerării pîinii făcută din grîul contaminat cu un fungicid, hexaclorbenzenul (27).

— *Porfiria acută intermitentă*, piroloporfiria sau tipul suedez este mai frecventă în țările nordice (Suedia, Danemarca), dar și în alte țări din Europa, America, Australia (35, 37). Clinic se traduce prin colici abdominale puternice și tulburări nervoase severe care pot fi declanșate de barbiturice, precum și prin eliminare crescută de acid Δ-aminolevulinic și porfobilinogen

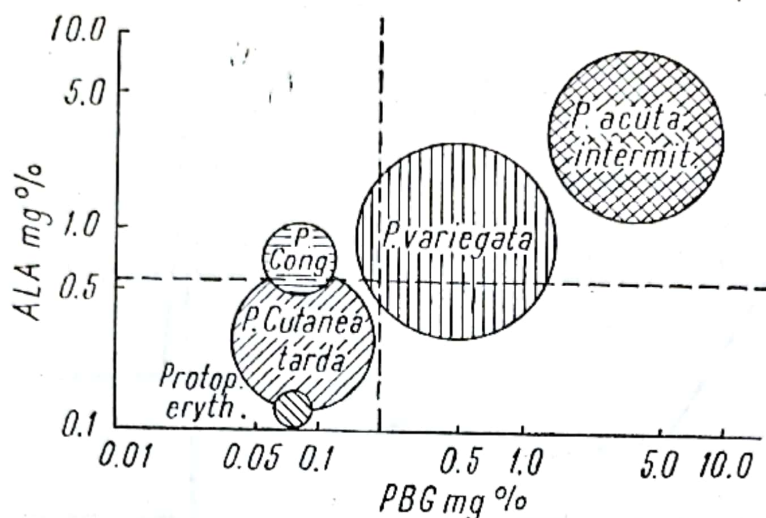


Fig. XIII, 7. Eliminarea porfirinelor în porfiriile ereditare (34).

(fig. XIII, 7). Modul de transmitere este autozomal dominant, cu o penetranță care poate varia foarte mult. Determinarea excreției de porfobilinogen este utilizată pentru detectarea persoanelor cu forma latentă asimptomatică, dar purtătoare ale genei mutante. Aspectul bolii diferă mult de la țară la țară și chiar de la familie la familie.

— *Porfiria variegata* are o frecvență foarte mare în Africa de Sud, la populația albă, dar este prezentă și în Olanda, ca și în alte țări. Boala manifestă se caracterizează prin fenomene abdominale, nervoase și cutanate declanșate și aici de barbiturice și anestezice generale, ca și printr-o excreție crescută de copro- și protoporfirine. Un studiu remarcabil al populației din Africa de Sud (10) arată că toate cele 8 000 de cazuri de *porfiria variegata* din această regiune descind dintr-un singur cuplu de buri, stabiliți acolo în 1688. Această boală este un exemplu ilustrativ despre efectele unei singure mutații într-o populație anumită cu o înmulțire rapidă, așa cum s-a petrecut acolo, unde aproximativ 1 000 000 din cele 3 000 000 de albi sînt descendenții a numai 40 de cupluri stabilite în Africa acum cîteva sute de ani.

— *Porfiria cutanea tarda* este mai rară decît tipurile precedente. Caracteristicile clinice mai importante sînt simptomele cutanate și apariția tardivă în cursul vieții. Interesarea hepatică se traduce prin fibroză, icter ușor, retenție de bromsulfonftaleină în fazele active și evidențierea porfirinelor la biopsia hepatică. Boala are caracter familial, este mai frecventă la bărbați și este indusă adesea prin alcool, ceea ce i-a făcut pe unii să o considere exogenă, astfel că baza ei genetică mai trebuie fundamentată.

Glicogenozele. Ficatul este sediul unei foarte active sinteze a glicogenului, ca şi a degradării lui prin enzimele fosforolitice şi hidrolitice (fig. XIII, 8). Glicogenozele sînt boli de înmagazinare a glicogenului în ţesuturi, congenitale şi familiale. De la descrierea lui Von Gierke, în 1929, a unei boli familiale caracterizată prin acumulare de glicogen în ficat cu hepatomegalie, hipogli-

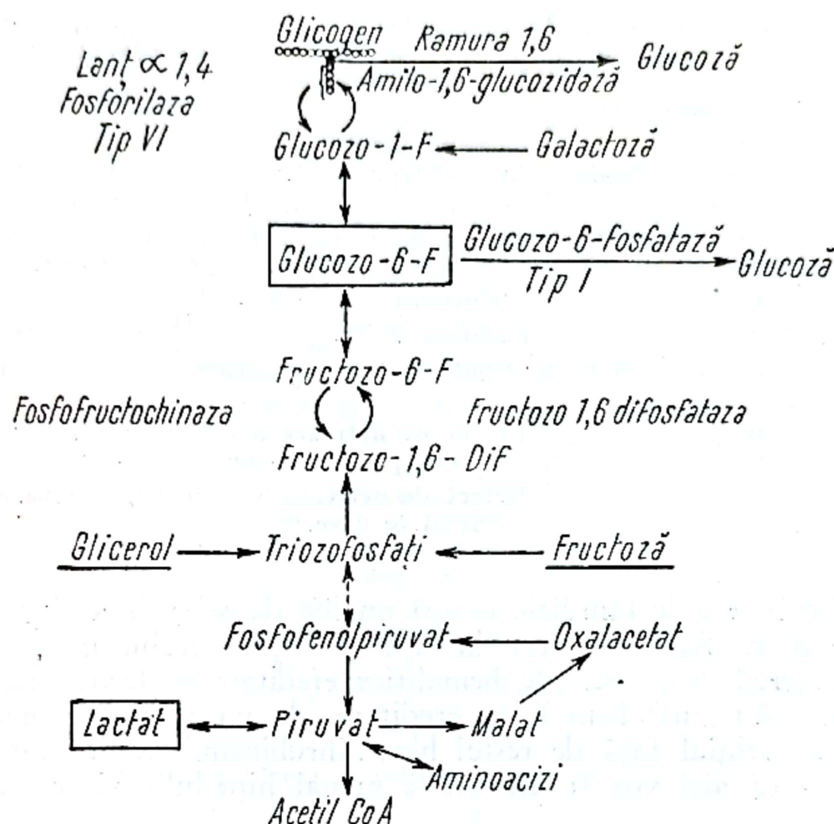


Fig. XIII, 8. Căile majore ale metabolismului glicogenului (27).

cemie şi tulburări de creştere, lista glicogenozelor a fost completată pînă la 9 tipuri, cu denumirea şi deficitul enzimatic corespunzător (tabelul XIII, 2). În toate acestea, cu excepţia tipului al 5-lea (sindromul McArdle), este afectat şi ficatul. Termenul de glicogenoze hepatice se aplică însă următoarelor trei tipuri: tipul I sau boala Von Gierke, cauzată de deficitul de glucozo-6-fosfatază; tipul al III-lea, boala Cori, boala Forbes sau limitdextrinoza cu deficit de amilo-1,6-glucozidază; tipul al VI-lea sau boala Hers, dată de deficitul în fosforilază. Pentru diferenţierea acestor tipuri, în afara determinărilor enzimatice se utilizează şi testele funcţionale ale utilizării glicerolului (28). Glicogenozele sînt boli foarte rare, frecvenţa lor probabil nu depăşeşte cifra de 1/10 000. Modul de transmitere este autozomal-recesiv.

Ficatul este afectat şi în alte boli familiale de tezaurizare, de exemplu în sindromul Hurler sau în lipidozele familiale.

Clasificarea glicogenozelor
(după Badual și Lestradet) (3)

Tip	Denumirea	Deficit enzimatic	Sediul leziunii
I	B. von Gierke (glicogenoza hepatorenală)	Glucozo-6-fosfataza	Ficat, rinichi, intestin
II	Glicogenoze generalizate: 1. B. Pompe (glicogenoza cardiacă) 2. Glicogenoza neuromusculară	α-glucozidaza	În majoritatea țesuturilor, ficat și leucocite
III	Limitdextrinoza, (boala Cori, boala Forbes)	Amilo-1,6-glucozidaza	Ficat, mușchi, eritrocite, leucocite
IV	Amilopectinoza (boala Andersen)	Amilo-1,4-1,6 transglucozidaza	Ficat, sistemul reticulo-histiocitar, eritrocite
V	Sindromul McArdle	Fosforilaza	Mușchi
VI	Boala Hers	Fosforilaza	Ficat, leucocite
VII	Glicogenoze asemănătoare tipului VI cu încărcare glicogenică musculară asociată		
VIII	Tipurile propuse de Hug și colab.	Defect de activare a fosforilazei hepatice corectat *in vivo* prin glucagon (?)	
IX		Defect de activare a fosforilazei hepatice corectat numai *in vitro* (?)	

Hiperbilirubinemiile familiale ocupă un loc deosebit în cadrul patologiei ereditare hepatice. Acest capitol include și hiperbilirubinemiile hemolitice, ca sferocitoza ereditară, anemiile hemolitice ereditare nesferocitare, hemoglobinopatiile etc. Anemiile hemolitice ereditare, de un interes deosebit pentru diagnosticul diferențial față de restul hiperbilirubinemiilor, au fost expuse în altă parte, așa că aici vor fi dezvoltate numai hiperbilirubinemiile familiale nehemolitice.

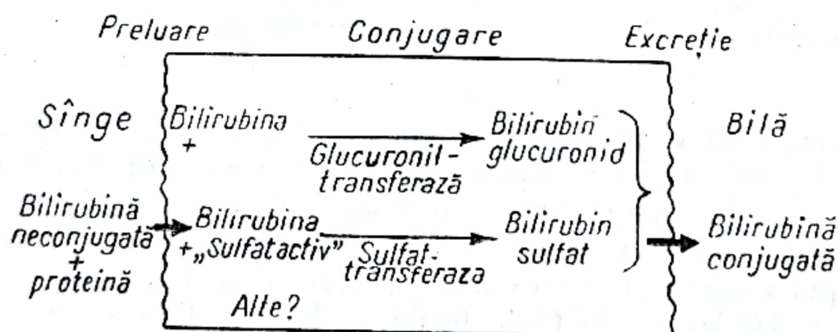


Fig. XIII, 9. Reprezentarea schematică a metabolismului bilirubinei în ficat (2).

Calea bilirubinei de la sînge spre căile biliare trece în mod normal prin celula hepatică. Acest traseu implică preluarea și transportul prin celulă, conjugarea la nivelul microzomilor și apoi excreția în canaliculul biliar (fig. XIII, 9). Traversarea membranelor hepatocitului atît la intrare, cît și la

excreţie se face prin procese de transport activ încă incomplet elucidate. Aceste mecanisme sînt deosebite şi independente, dovadă că ele pot fi alterate separat. Redăm mai jos o clasificare a hiperbilirubinemiilor familiale.

TABELUL XIII, 3

Clasificarea hiperbilirubinemiilor familiale
(după Scheuer şi Williams) (26)

Tip	Bilirubină serică mg/100 ml	Defectul	Histologia	Modul de transmitere
Neconjugate				
Neonatală tranzitorie (G-6-PD)	10–40	Hemoliză şi alţi factori	Normal	Nu se cunoaşte
Neonatală tranzitorie (inhibitor)	12–65	Inhibarea conjugării	Normal	Nu se cunoaşte
Crigler-Najjar	16–45 1–4	Deficit de glucuronil-transferază.	Normal	Recesiv
Gilbert		Defect al preluării	Normal	Dominant cu penetranţă incompletă
Hiperbilirubinemie şuntată	2–3	Exces de formare	Sideroză	Nu se cunoaşte
Conjugate				
Neonatală tranzitorie	6–22	Blocaj excretor	Normal	Nu se cunoaşte
Dubin-Johnson	2–19	Blocaj excretor	Pigment negru	Dominant cu penetranţă incompletă
Rotor	2–24	Blocaj excretor	Normal	Dominant cu penetranţă incompletă
Colestaza recurentă idiopatică	8–23	Leziune celulară difuză	Colestază	Nu se cunoaşte

Hiperbilirubinemia tranzitorie apare la mai mulţi fraţi din aceeaşi familie din prima zi a vieţii şi de obicei icterul dispare fără sechele după mai multe luni de la naştere. În serul acestor copii se pune în evidenţă un factor inhibitor al conjugării bilirubinei. Se discută o ereditate recesivă sau legată de sex sau o ereditate citoplasmică sau poate o cauză negenetică, factorul inhibitor provenind din laptele mamei.

Hiperbilirubinemia primară şuntată, tradusă prin icter şi o eliminare crescută de urobilinogen în fecale şi urină, are la bază o producere excesivă din alte surse decît hemul hematiilor circulante.

Sindromul Crigler-Najjar este o hiperbilirubinemie neconjugată severă, în care copiii sucombă precoce cu icter nuclear în primul an de viaţă. Glucuroniltransferaza, enzima responsabilă pentru conjugarea bilirubinei este deficitară în hepatocit. Defectul de conjugare a fost demonstrat şi pentru alte substanţe care, de obicei, sînt conjugate în ficat. În primele 7 cazuri descrise, tendinţa

familială era evidentă, ele provenind din 3 familii înrudite. Într-una din familiile studiate s-a descoperit defectul conjugării prin testul cu mentol la ambii părinți, bunici și 6 frați. Sînt descrise și cazuri care au supraviețuit pînă la vîrsta adultă.

Boala Gilbert sau colemia simplă familială este cea mai frecventă din hiperbilirubinemiile congenitale neconjugate și se prezintă ca un icter ușor intermitent cu caracter familial. Natura exactă a deficitului nu este precizată, dar se crede că se manifestă la nivelul preluării bilirubinei de către hepatocit. Modul de transmitere este nesigur. Familii în care boala a fost prezentă de-a lungul a 4 generații (fig. XIII, 10) sau în care mama și 7 din cei 8 copii ai unui icteric au avut aceeași boală sugerează dominanța. Se afirmă că boala Gilbert nu este o singură entitate, ci reprezintă mai multe stări dintre care una ereditară, și că hiperbilirubinemia posthepatitică este o variantă a bolii (30). Această relație a bolii Gilbert cu hiperbilirubinemia posthepatitică prezintă interes diagnostic, întrucît dacă un bolnav cu boala Gilbert face o infecție, icterul se intensifică, putînd simula o hepatită virală. Există autori care cred că boala Crigler-Najjar și boala Gilbert reprezintă una și aceeași boală, prima în formă homozigotă iar a doua în formă heterozigotă.

Fig. XIII, 10. Arborele genealogic al unei familii cu boala Gilbert [*după Manson* (17)].

Sindroamele Dubin-Johnson și Rotor par să fie variante ale aceleiași boli. Ele se deosebesc doar prin datele biopsiei hepatice. În primul rînd, ficatul are o culoare negricioasă și pe secțiunile microscopice se văd depuneri de pigment brun-negru, în special în zonele centrolobulare, în timp ce în sindromul Rotor, ficatul nu conține asemenea depuneri. Defectul se manifestă la nivelul

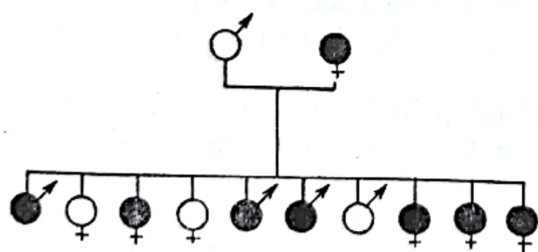


Fig. XIII, 11. Arborele genealogic al unei familii cu boala Dubin-Johnson [*după Wolf* (37)].

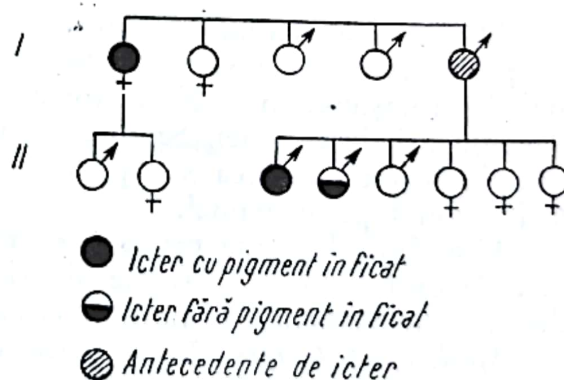


Fig. XIII, 12. Arborele genealogic al unei familii în care se găsesc atît cazuri cu icter tip Dubin-Johnson, cît și tip Rotor [*după Arias* (1)].

excreţiei bilirubinei din hepatocit, astfel că bilirubina conjugată regurgitează în curentul sanguin. Defectul excretor se referă şi la bromsulfonftaleină şi la agenţii colecistografici. Pigmentul din sindromul Dubin-Johnson este probabil un produs de retenţie care diferă structural şi histochimic de lipofuscină şi care ar fi înrudit cu melanina şi catecolaminele. În aproximativ o treime din cazuri se poate arăta caracterul familial al bolii, modul de transmitere fiind dominant, cu penetranţă incompletă şi expresie variabilă (fig. XIII, 11). Prezenţa consanguinităţii în unele familii ar sugera celălalt mod, recesiv, fără ca primul să poată fi exclus. Prezenţa în aceeaşi familie a ambelor tipuri, cu şi fără depunere de pigmenţi în ficat, întăreşte supoziţia că ele sînt variante ale aceleiaşi boli (fig. XIII, 12).

Lista bolilor hepatice genetice ar mai putea fi continuată cu cele caracterizate prin morfogeneză anormală, cum sînt: ficatul polichistic, fibroza hepatică congenitală, atrezia căilor biliare, hepatita neonatală cu celule gigante sau cu boli ereditare cu caracter general, în care este interesat şi ficatul (telangiectazia ereditară tip Rendu-Osler, mucoviscidoza etc.).

B. PATOLOGIA INTESTINULUI

ANOMALIILE EREDITARE ALE ABSORBŢIEI INTESTINALE

Un alt capitol important al geneticei tubului digestiv este acela al *anomaliilor ereditare ale absorbţiei intestinale*. Deşi sînt rare, ele au un mare interes în relaţie cu mecanismele absorbţiei intestinale la om. Cercetările acestor mecanisme constituie unul dintre cele mai palpitante sectoare ale investigaţiei curente şi au dus la reale progrese în cunoaşterea fiziologiei digestive. Se acordă astăzi o mare importanţă membranei absorbtive a celulei intestinale cu microvilii ei, care alcătuiesc aşa-zisa margine în perie şi care este considerată un organit separat, cu rol în transportul activ al substanţelor nutritive. Digestia nu este un proces strict intraluminal, ci ea se continuă şi în interiorul celulei intestinale. Astfel, scindarea iniţială a hidraţilor de carbon în poli- şi dizaharide are lor în lumenul intestinal, dar hidroliza dizaharidelor în monozaharide este un proces intracelular, locul hidrolizei fiind membrana marginală „în perie", zona cea mai bogată în dizaharide (5). Lipidele sînt şi ele modificate în cursul trecerii prin mucoasa intestinală. Gliceridele intrate în celulă suferă o hidroliză completă şi o resinteză rapidă în fosfolipide şi trigliceride pînă la formarea de chilomicroni capabili să treacă apoi în limfatice. Proteinele de asemenea nu sînt totdeauna scindate complet în lumen, o parte intră în celulă ca dipeptide, scindarea finală în aminoacizi fiind o funcţie a peptidelor intracelulare. Absorbţia prin mucoasă nu se face numai prin difuziunea pasivă, ci, pentru majoritatea substanţelor nutritive, prin procese de transport activ, prin membrana celulară faţă de un gradient electrochimic, procese care necesită o energie furnizată de către metabolismul celular. Sistemele de transport activ au fost demonstrate pentru glucoză, galactoză şi altele, configuraţia moleculară a zahărului jucînd un rol important în acest transport. Acest meca-

nism este în special important pentru transportul glucidelor din celulă în sînge. Aminoacizii sînt de asemenea absorbiţi din lumen prin transport activ. Există un sistem de transport comun pentru aminoacizii neutri (leucină, metionină, triptofan), acesta fiind stereospecific, şi un sistem separat de transport pentru aminoacizii bazici (lizină, arginină, cistină, ornitină). Alte sisteme de transport activ există pentru absorbţia acizilor graşi, vitaminei B_{12}, fierului, calciului, sodiului etc. În aceste procese de digestie şi absorbţie sînt implicate sisteme enzimatice numeroase şi complexe, astfel că se înţelege de ce descoperirea unor erori înnăscute enzimatice în acest domeniu nu este surprinzătoare, după cum nu este surprinzător nici faptul că au fost descoperite atît de tîrziu, pentru că tulburările absorbtive au fost multă vreme mascate de cele produse de malnutriţie şi mai ales de infecţie. În cadrul malabsorbţiei intestinale mai merită menţionat faptul că defectul de transport intestinal se însoţeşte adeseori de un defect renal, deoarece mecanismul absorbţiei pentru unele substanţe este similar în intestin cu cel din tubulii renali.

Redăm mai jos o clasificare a *anomaliilor ereditare ale absorbţiei intestinale* (2):

1. Tulburări ale absorbţiei hidraţilor de carbon:
a) malabsorbţia glucozei şi galactozei;
b) defecte ereditare ale absorbţiei intestinale a dizaharidelor.
2. Tulburări ale absorbţiei intestinale a aminoacizilor.
3. Tulburări ereditare ale absorbţiei intestinale a grăsimilor.
4. Boli ereditare ale pancreasului, cauzînd malabsorbţia intestinală.
5. Boli ereditare ale absorbţiei electroliţilor:
a) alcaloza congenitală cu diaree (clorhidroreea congenitală);
b) defecte ereditare ale absorbţiei de calciu şi fosfor;
c) defecte ereditare ale absorbţiei de fier şi cupru.
6. Defecte ereditare ale absorbţiei de vitamină B_{12}.

1. TULBURĂRI ALE ABSORBŢIEI HIDRAŢILOR DE CARBON

a) **Boala malabsorbţiei glucozei şi galactozei,** descrisă pentru prima dată în 1962, se caracterizează printr-o diaree profuză, apoasă, care apare imediat după ingestia de lapte; scaunele numeroase acide conţin glucoză, galactoză şi acid lactic, dar nu dizaharide. Există şi glicozurie, fără alte tulburări renale. Defectul de bază este limitat la locul de intrare în celula mucoasei: marginea în perie. Coincidenţa glicozuriei implică similaritatea de transport a glucozei în intestin şi rinichi. Diareea se datoreşte efectelor osmotice ale monozaharidelor neabsorbite şi acizilor organici produşi sub acţiunea bacteriilor. Există consanguinitate, sugerînd modul de transmitere recesiv.

b) **Defecte ereditare ale absorbţiei dizaharidelor.** Deficitul dizaharidelor din marginea „în perie" a epiteliului intestinal produce alactazia ereditară, intoleranţa ereditară la lactoză, intoleranţa la sucrază, intoleranţa la fructoză. În alactazia ereditară, datorită absenţei lactazei din enterocit, se produce o intoleranţă la lapte cu diaree fermentativă severă. Dintre fracţiunile lactazice separabile cromatografic este deficientă probabil lactaza I. Intoleranţa eredi-

tară la lactoză este distinctă de alactazie, însoţindu-se de excreţie urinară de lactoză, de aminoacidurie şi steatoree. Se constată la biopsie o turtire a vililor duodenali şi jejunali. Intoleranţa la sucroză, dată de un deficit al sucrazei, este de obicei însoţită şi de un defect al izomaltazei. Există diaree fermentativă dacă alimentaţia conţine sucroză, dextrine, amidon. Detectarea acestor defecte ale dizaharidazelor este mai dificilă, deoarece ele nu sînt secretate, astfel că trebuie utilizată metoda biopsică (8). Faptul că nu totdeauna deficitul enzimatic este unic, ca în intoleranţa la lactoză, ci uneori sînt afectate mai multe enzime, indică un mecanism de control genetic mai complicat pentru unele din dizaharidazele intestinale. Este posibil ca aceste enzime să posede un lanţ polipeptidic comun, asupra cărora acţionează gena mutantă, sau poate exista un sistem de izoenzime alcătuite din proporţii diferite ale aceloraşi lanţuri polipeptidice, din care numai unul a fost afectat de gena mutantă.

2. DEFECTE ALE TRANSPORTULUI AMINOACIZILOR

Există mecanisme diferite de absorbţie pentru aminoacizii neutri şi dibazici, cît şi pentru prolină hidroxiprolină, astfel că defectele acestor mecanisme vor da aspecte clinice diferite. Boala Hartnup se caracterizează prin transportul defectuos al acizilor aminaţi monoamino-monocarboxilici în intestin şi tubulul renal proximal, defectul mai important fiind acela al absorbţiei triptofanului prin mucoasa jejunală. Modul de transmitere este autozomal-recesiv. Clinic se prezintă ca un raş pelagroid ereditar, cu ataxie cerebeloasă temporară, aminoacidurie renală şi alte caractere biopsice. Defectul transportului după administrarea orală a triptofanului a fost demonstrat prin următoarele efecte: triptofanul scăzut în plasmă şi prezent în fecale, exces de indol şi acid indolacetic în scaun, produşi ai metabolismului bacterian ai triptofanului, precum şi creşterea indicanului urinar şi acidului indolilacetic (21). Raşul pelagroid se datoreşte cantităţii mici de triptofan disponibil pentru sinteza nicotinamidei, iar semnele neurologice s-ar putea datori intoxicaţiei prin absorbţia în exces din colon a produşilor de degradare a aminoacizilor, ca histamina, tiramina, indolul etc.

Cistinuria se caracterizează prin defectul de transport al acizilor aminaţi bibazici: cistina, lizina, ornitina, arginina, defect localizat atît în jejun, cît şi în tubulul renal. Simptomele sînt puţine: bolnavii sînt mai mici de statură şi au tendinţa de a forma calculi renali. Modul de transmitere este autozomal-recesiv. Boala are cel puţin trei varietăţi separate: tipul I în care este complet abolit transportul tuturor aminoacizilor bibazici prin mucoasa jejunală; tipul al II-lea concentrează cistina în jejun, dar nu şi lizina şi arginina; tipul al III-lea acumulează toţi trei aminoacizii, dar excretă în urină cantităţi mari de lizină şi cistină.

3. TULBURĂRI EREDITARE ALE ABSORBŢIEI INTESTINALE A GRĂSIMILOR

Abetalipoproteinemia, o boală care apare în copilărie, se caracterizează prin absenţa din plasmă a β-lipoproteinelor, cu plasmă clară, steatoree, la care ulterior se adaugă ataxia cerebeloasă, neuropatia periferică, acantocitoza

(fig. XIII, 13), retinita pigmentară. Defectul de bază constă în lipsa de formare a chilomicronilor în mucoasă sau de eliberare înspre vasele limfatice. Acantocitoza este rezultatul concentrației scăzute a lipidelor din plasmă și a modificării structurii membranei hematiei, iar modificările nervoase și retiniene ar fi date de deficiența acizilor grași esențiali și vitaminelor liposolubile. Biopsia prin aspirație arată o acumulare netă de lipide în celulele mucoasei jejunale mai ales în vîrful vililor.

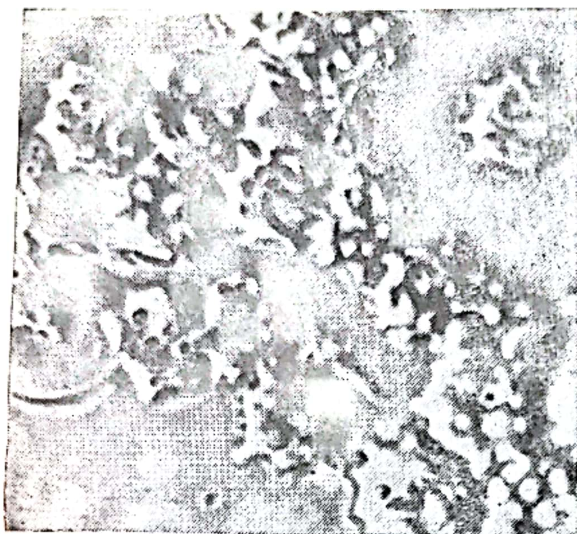


Fig. XIII, 13. Acantocitoză prin absență congenitală de β-lipoproteine [*după Frézal* (14)].

4. BOLI EREDITARE ALE PANCREASULUI

În mucoviscidoză, boală generalizată a glandelor exocrine, (manifestată prin fibroză pancreatică, mucus vîscos, infecții respiratorii, eliminare crescută de sodiu și clor prin transpirație), lipsesc enzimele pancreatice: lipaza, tripsina, chimotripsina. Această carență enzimatică duce la steatoree, care apare de obicei în primul an al vieții, cu malnutriție și lipsa de dezvoltare. Pancreatita ereditară recidivantă se însoțește și ea de absența enzimelor pancreatice. A fost descris și un deficit de lipază pancreatică în cîteva cazuri.

5. BOLI EREDITARE ALE ABSORBȚIEI ELECTROLIȚILOR

Alcaloza congenitală cu diaree sau clorhidroreea congenitală se caracterizează prin alcaloză metabolică și eliminare excesivă de clor în fecale și absența lui aproape completă din urină. Defectul de bază implică mecanismul schimbului dintre clor și bicarbonat în intestin.

Defectele ereditare ale absorbției de calciu și fosfor au fost descrise în rahitismul ereditar.

6. DEFECTE EREDITARE ALE ABSORBȚIEI DE VITAMINĂ B_{12}

Anemia megaloblastică din copilărie poate avea două cauze ereditare: defectul congenital de factor intrinsec care produce o anemie megaloblastică și apare de obicei înaintea vîrstei de 2 ani, fără aclorhidrie și atrofia mucoasei gastrice; defectul de transport al vitaminei B_{12} prin mucoasa ileonului, care se însoțește de proteinurie a cărei cauză nu se cunoaște încă.

La capitolul tulburărilor ereditare ale absorbției intestinale trebuie menționată și *steatoreea idiopatică sau enteropatia glutenică*. Cele două tablouri,

celiachia copiilor şi sprue netropical al adultului sînt considerate variante ale aceleiaşi stări patologice. Concentraţia familială a bolii este atît de mare (la părinţi şi în fraterii), încît este imposibil să nu fie implicată în patogeneză şi componenta ereditară. Substratul eredităţii nu este încă suficient elucidat. Defectul cel mai important este carenţa unei peptidaze din mucoasa intestinală (L-glutaminilpeptidaza), astfel că peptidele glutenului nu sînt complet scindate. Glutamina, constituent al gliadinei glutenice, ar exercita un efect toxic direct asupra epiteliului, ducînd la atrofia mucoasei. Se discută de unii autori (19) că acesta nu este singurul defect şi că ar fi vorba de un proces multifactorial, cuprinzînd efectul mai multor gene în interacţiune cu factorii de mediu. Substratul morfologic este atrofia mucoasei enteronului proximal cu ştergerea vilozităţilor în grad maxim la nivelul duodenului şi jejunului. Malabsorbţia interesează substanţele care se absorb la acest nivel, în primul rînd lipidele, dar şi altele, ca glucoza, fierul, acidul folic, vitamina D etc.

RECTOCOLITA HEMORAGICĂ

Boală nu prea frecventă la noi, dar cu morbiditate în creştere în toate zonele geografice, face parte din categoria bolilor digestive cu etiopatogeneză încă neelucidată. Se discută în special 3 categorii de factori: factorul familial, cel imunologic şi cel de mediu. Incidenţa familială crescută a bolii este un fapt dovedit de numeroase statistici. Cercetările imunologice, clinice şi experimentale pledează pentru capacitaea colonului de a participa în reacţiile imunologice. Factorii de mediu, mai ales infecţioşi şi alimentari, intervin şi ei în lanţul patogenetic al bolii. Se poate afirma deci că rectocolita hemoragiei face parte din bolile cu cauzalitate plurifactorială şi că există o predispoziţie familială poligenică, care ar putea consta dintr-o tulburare a homeostazei imunologice sau dintr-o vulnerabilitate celulară crescută, determinată genetic, care modifică reactivitatea faţă de factorii de mediu. Studiile în curs vor aduce desigur mai multă claritate în acest domeniu.

POLIPOZA INTESTINALĂ

Acest capitol cuprinde mai multe forme clinice, a căror etiopatogeneză nu este încă suficient lămurită. Caracterul ereditar este unanim recunoscut pentru următoarele trei variante: polipoza familială a colonului, sindromul Gardner şi sindromul Peutz-Jeghers (19). Există şi forme ale polipozei gastrointestinale, în care nu s-a evidenţiat tendinţa familială:

— *Polipoza familială a colonului* este probabil varianta cea mai frecventă a bolii. În formele tipice, întregul colon este tapetat cu polipi al căror aspect histologic este de adenom benign. Analiza arborilor genealogici arată că boala se transmite autozomal dominant şi că expresivitatea genei poate fi influenţată de factorii de mediu. Un fapt care trebuie subliniat este malignizarea frecventă şi la o vîrstă tînără a polipilor colonului.

— *Sindromul Gardner* constă din asocierea unei polipoze multiple a intestinului subţire şi gros cu tumori ale oaselor şi ţesuturilor moi. Acestea

din urmă sînt în predominanţă chisturi dermoide, sebacee şi fibroame, lipoame sau chiar sarcoame. Există şi în acest sindrom o tendinţă marcată la degenerescenţa malignă a polipilor. Manifestările fenotipice sînt produse de o genă unică, cu efect pleiotropic, care se transmite autozomal dominant.

— *Sindromul Peutz-Jeghers* se caracterizează printr-o polipoză intestinală generalizată şi prin pete pigmentare cutanate şi mucoase. Polipii sînt multipli şi se localizează mai frecvent în intestinul subţire. Petele melanice apar pe buze, mucoasa obrajilor, gingiilor, pe degete, palme, pleoape. Polipii nu sînt adenoame, ci malformaţii congenitale sau hamartoame şi numai foarte rar se malignizează. Studiul pedigriurilor demonstrează că boala se datoreşte unei gene unice, cu efect pleiotropic. Expresia genei este variabilă şi nu toţi membrii unei familii dezvoltă tabloul complet, unii au numai polipoză sau numai pete melanice.

Există şi alte variante rare, probabil ereditare: polipoza colonului cu tumori ale sistemului nervos, polipoza multiplă a colonului şi stomacului, a colonului cu polip duodenal etc.

C. PATOLOGIA GASTRODUODENALĂ

Din acest capitol ne vom mărgini să menţionăm doar **ulcerul duodenal.** Mecanismul plurifactorial al patogenezei acestei boli în care participă atît predispoziţia ereditară, cît şi factorii de mediu a fost mereu subliniată în lucrări anterior publicate (13, 19). Dintre toţi factorii patogenetici care intervin în determinismul bolii ulceroase, factorul genetic pare cel mai important pentru că este singurul constant, singurul necesar (12). Cercetările întreprinse în ultimii ani de colectivul Clinicii a III-a medicale de la Cluj au permis următoarele contribuţii la studiul patogenezei ulcerului duodenal:

— constatarea unei incidenţe familiale crescute a ulcerului duodenal şi la populaţia zonei noastre geografice;

— prezenţa aceluiaşi raport de 4/1 între bărbaţi şi femei;

— frecvenţa mai mare a complicaţiilor în ulcerele familiale;

— asocierea cu grupa sanguină O şi mai ales cu starea de nonsecreţie salivară a mucosubstanţelor de grupă;

— capacitatea clorhidrosecretorie crescută nu numai la ulceroşii duodenali, dar şi la membrii de familie aparent sănătoşi provenind din familii de ulceroşi, precum şi asocierea ei cu grupa O şi nonsecreţia sugerînd că această capacitate poate fi inclusă în fondul ereditar.

Cu toată bogăţia de fapte acumulate, cunoştinţele reale despre modul intim prin care se exercită influenţele ereditare în ulcerul duodenal sînt încă modeste. Nu ar fi exclus ca şi alte verigi cunoscute ale lanţului patogenetic să aibă o bază genetică. Ar fi posibil ca în urma unei malformaţii sau a hiperfuncţiei ereditare, calea neurovagală să reprezinte un stimul permanent crescut pentru masa celulelor acidosecretoare gastrice. Ar putea fi luate în consideraţie erori „înnăscute" în legătură cu metabolismul acetilcolinei, gastrinei, histaminei sau cu transportul ionilor prin mucoasa gastrică. Complexitatea problemei, ca şi lipsa unei metodologii face ca studiul factorilor genetici în boala ulceroasă să pară încă dificil şi anevoios.

PROBLEME DE TERAPIE ÎN BOLILE EREDITARE DIGESTIVE

Terapia este încă partea cea mai puţin satisfăcătoare a geneticei medicale, totuşi, nu sîntem atît de dezarmaţi pe cît s-ar părea şi se speră că progresele rapide din domeniul cunoaşterii mecanismelor de producere a bolilor vor fi de folos şi în ameliorarea tratamentului. Menţionăm cîteva forme de tratament în bolile genetice digestive:

— **Dieta de excludere.** Scoaterea la timp din alimentaţie a substanţelor care nu pot fi metabolizate poate preveni tulburările ireversibile. Ulterior, organismul „învaţă" să tolereze substanţele respective fie prin maturare enzimatică, fie prin inducerea altor căi metabolice, fie datorită faptului că de la o vreme ţesuturile încetează să mai fie sensibile. Este cazul galactozemiei, deficitului de dizaharidaze, enteropatiei glutenice etc.

— **Evitarea unor medicamente.** Barbituricele precipită crizele de porfirie la persoanele cu acest defect genetic, de aceea agentul declanşator trebuie evitat.

— **Eliminarea din organism a substanţelor acumulate în urma erorii de metabolizare.** În degenerescenţa hepatolenticulară, cuprul poate fi îndepărtat prin agenţi chelatori care-l fixează şi-l elimină prin urină; de asemenea în hemocromatoză, excesul de fier se poate elimina prin chelatori. Tratamentul prin venepuncţii repetate în hemocromatoză este o modalitate de a imita natura care face ca femeile să prezinte mai rar boala, ele eliminînd fierul cu ocazia sarcinii şi a ciclului.

— **Tratamentul chirurgical** îndepărtează organul afectat, acolo unde este posibil: eliminarea polipilor intestinali (evitînd malignizarea), intervenţiile chirugicale pentru ulcer, sindromul Zollinger-Ellison etc.

Lista bolilor ereditare ale tractului gastrointestinal şi a problemelor pe care ele le ridică este departe de a fi epuizată, dar nu acesta a fost scopul prezentei lucrări. Am intenţionat doar să subliniem contribuţia pe care o aduce genetica, prin metodele şi căile ei de abordare, la rezolvarea numeroaselor necunoscute care persistă încă în cunoaşterea mecanismelor de producere a unor boli ale tubului digestiv.

BIBLIOGRAFIE

1. Arias I. M. — *Amer. J. Med.*, 1961, 31, 510.
2. Arias I. M. — The transport of bilirubin in the liver, în Progress in liver diseases, vol. 1, edit. H. Poper şi F. Schaffner. Ed. Heinemann, Londra, 1961.
3. Badual J., Lestradet H. — *Path. Biol.*, 1968, 16, 7—8, 457.
4. Bearn A. G. — (cit. R. B. McConnell), The genetics of gastrointestinal disorders, Oxford Univ. Press, Londra, 1966, p. 206.
5. Booth C. C. — Physiopathology of intestinal malabsorbtion; In Recent advances in gastroenterology, edit. J. Badenoch şi B. N. Brooke, Ed. Churchill, Londra, 1965.
6. Clarke C. A., Price Evans D. A., Harris R., McConnell R. B., Woodrow J. C. — *Quart. J. Med.*, 1968, 37, 145, 52.
7. Crosby W. H. — *Blood*, 1963, 22, 441.
8. Dahlquist A. — *Enzyme deficiency in the small intestine*; in Recent advances in gastroenterology, edit. J. Badenoch şi B. N. Brooke, Ed. Churchill, Londra, 1965

9. Davis P. S., Luke C. G., Deller D. J. — *Lancet*, 1966, II, 1 431.
10. Dean G., Barnes H. D. — *Brit. med. J.*, 1955, 2, 89.
11. Debré R. — (cit. R. B. McConnell), The genetics of gastrointestinal disorders, Oxford Univ. Press, Londra, 1966, 203.
12. Dubarry J. J., Pisot G., Duhamel J. — *Biol. Med.*, 1960, 2, 178.
13. Fodor O., Popescu S., Urcan Stela — Boala ulceroasă, fiziopatologie şi patogeneza, Ed. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1968.
14. Frezal J. — *Abbottempo*, 1966, 1, 22.
15. Frisch A. V. — (cit. J. E. Berk şi R. J. Priest), Gastroenterology, vol. III, edit. H. L. Bockus. Ed. Saunders, Philadelphia, 1966.
16. Johnson G. B., Fery W. G. — *J. Amer. med. Ass.*, 1962, 179, 747.
17. Macdonald R. A. — *Arch. intern. Med.*, 1963, 112, 184.
18. Manson J. S. — (cit. R. B. McConnell), The genetics of gastrointestinal disorders, Oxford Univ. Press, Londra, 1966, 218.
19. McConnell R. B. — The genetics of gastro-intestinal disorders, Oxford, Univ. Press, Londra, 1966.
20. McKusick V. A. — *Amer. J. Med.*, 1963, 34, 5.
21. Milne M. D. — *Brit. med. Bull.*, 1967, 23, 3, 279.
22. Morgan O. S., Weir D. G., Gatenby P. B. B., Scott J. M. — *Lancet*, 1969, I, 861.
23. Pirart J., Gatez P. — *Sem. Hôp. Paris*, 1958, 37, 1 044.
24. Powell L. W. — *Quart. J. Med.*, 1965, 34, 427.
25. Pollycove M. — *Essentialia*, 1966, 2.
26. Scheuer P. J., Williams — Genetic disorders of the liver; in Progress in liver diseases, vol. II, edit. H. Popper şi F. Schaffner, Ed. M. B. Heinemann, Londra, 1965.
27. Schmidt R. — The Porphyrias, The Metabolic basis of inherited diseases, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden şi D. S. Fredrickson, Ed. Mc Graw Hill, New York, 1966.
28. Senior B., Loridan L. — *New Engl. J. Med.*, 1968, 279, 958.
29. Sheldon H. J. — (cit. McConnell) (19).
30. Sherlock S. — Diseases of the liver, Ed. F. A. Davis, Philadelphia, 1968.
31. Smithies O. — *Biochem. J.*, 1955, 61, 629.
32. Sternlieb I., Morell A. G., Bauer C. D., Combes B., de Bobes-Sternberg S., Scheinberg I. H. — *J. clin. Invest.*, 1961, 40, 707.
33. Sternlieb I. — *Gastroenterology*, 1968, 55, 3, 354.
34. Truelove S. C., Reynell P. C. — Diseases of the digestive system, Ed. Blanckwell, Oxford, 1965.
35. Waldenström J., Haeger-Aronsen B. — The Porphyrias, a genetic problem, Progress in Medical Genetics, vol. 5, edit. G. Steiber şi A. G. Bearn, Ed. Grune şi Stratton, New York, 1967.
36. Walshe J. M. — Wilson's Disease, edit. D. Bergsma, J. H. Scheinberg şi Sternlieb I., National Foundation-March of Dimes, New York, 1968.
37. With T. K. — *Acta med. scand.*, 1969, 186, 117.
38. Wolf R. L., Pizette M., Richman A., Dreiling D., Jacobs W. Fernandez O., Popper H. — *Amer. J. Med.*, 1960, 28, 32.

Capitolul al XIV-lea

ASPECTE GENETICE ÎN OFTALMOLOGIE

I. Păcurariu, Rodica Pop

Poate mai mult decît în alte ramuri ale specialităţilor medicale, aspectul genetic al afecţiunilor oculare este cunoscut de foarte mult timp, iar studiile întreprinse în acest domeniu sînt deosebit de numeroase. În ultimul deceniu, datorită cuceririlor din biochimia celulară şi a studiilor bazate pe modificările structurale ale cromozomilor, cercetările clinice de genetică oculară au luat un avînt deosebit.

Cauzele care fac ca cercetările în domeniul geneticei oculare să fie foarte numeroase şi dintre cele mai avansate sînt, după Duke-Elder, următoarele:

1. Poziţia anatomică a globului ocular, accesibilă direct celor mai moderne mijloace de investigaţie clinică, a căror precizie o egalează — în multe cazuri — pe aceea a cercetărilor de laborator (biomicroscopie, oftalmoscopie etc.).

2. Evidenţa unora dintre anomaliile oculare, care la alte organe nu pot fi descoperite decît după investigaţii laborioase.

3. Caracterul adesea extrem de simplu al naturii genetice a bolii.

4. Interesul susţinut al unor oftalmologi de vază care s-au dedicat, în mod special, studiului acestor categorii de afecţiuni (Nettelship, Bell, Franceschetti, François etc.).

Toate acestea au contribuit la apariţia, în frecvenţă sporită a unor importante studii monografice dedicate acestei probleme.

În practica de toate zilele este adesea deosebit de greu să stabilim natura exactă a unei boli. De aceea considerăm împreună cu Sorsby — că o afecţiune oculară o putem considera genetic determinată dacă în etiologia ei predispoziţia genetică predomină faţă de factorii de mediu. Numai în foarte puţine cazuri de anomalii congenitale s-au putut pune în evidenţă erori înnăscute ale metabolismului. În cea mai mare parte a cazurilor, acestea lipsesc. De asemenea, modificările numerice şi structurale ale cromozomilor s-au putut evidenţia într-un număr foarte limitat de boli rare, foarte probabil din

cauză că marea majoritate a acestor anomalii cromozomiale nu sînt compatibile cu viața.

Datorită acestor motive, orice clasificare a bolilor oculare genetic determinate trebuie să fie eclectică: biochimică sau metabolică, în puținele cazuri în care acest lucru este posibil, anatomică sau pur descriptivă în marea majoritate a cazurilor.

În încercarea noastră de a sistematiza expunerea, în scopul formării unei idei cît mai clare și cît mai apropiate de realitate, vom studia afecțiunile oculare în următoarea succesiune:

I. Boli metabolice cu manifestări oculare.

II. Boli sistemice cu manifestări oculare.

III. Principalele sindroame cu manifestări oculare.

IV. Boli oculare propriu-zise, genetic determinate, care nu se încadrează în grupele de mai sus.

V. Manifestări oculare la heterozigoți.

După cum se vede, clasificarea este artificială, iar grupele de boli nu sînt suficient de bine conturate, aceeași afecțiune putînd fi foarte bine încadrată în una sau alta din primele 3 categorii de afecțiuni, cu cointeresarea globului ocular.

I. BOLI METABOLICE CU MANIFESTĂRI OCULARE

Vom menționa numai pe acelea în care manifestările oculare sînt mai evidente.

A. TULBURĂRILE METABOLISMULUI PROTIDIC

Dintre tulburările *metabolismului protidic* sînt de semnalat:

1. **Alcaptonuria sau ochronoza,** care se transmite după modul recesiv sau dominant. Din punctul de vedere al manifestărilor clinice generale, afecțiunea este recunoscută după colorația brună închisă pe care o primește urina expusă la aer și după colorația albastră-brună pe care o poate avea cartilajul urechilor sau nasului.

Alcaptonuria este datorită tulburării metabolismului fenilalaninei și tirozinei, transformarea acestor doi acizi aminați terminîndu-se la stadiul de acid homogentizinic sau alcapton. Din punct de vedere ocular se manifestă prin apariția unor pete albastre pe conjunctivă și sclerotice.

2. **Albinismul,** datorit lipsei congenitale a tirozinazei sau dopaoxidazei are mai multe forme:

a) Albinismul universal complet; se transmite după modul autozomal-recesiv în marea majoritate a cazurilor.

b) Albinismul universal incomplet sau albinoidismul; se transmite după modul autozomal-recesiv sau dominant, regulat sau neregulat.

c) Albinismul izolat al ochiului se transmite după modul autozomal recesiv legat de sex.

3. **Cistinuria și cistinoza** (boala Lignac).

Cistinoza este datorită de asemenea tulburării metabolismului acizilor aminați și, în afară de leziunile oculare caracteristice, se manifestă prin:

— tulburări de creștere cu nanism;

— hipofosfatemie cu rahitism și osteoporoză;

— nefroză cronică interstițială, dar mai ales glomerulară;

— anemie hipocromă și hipokaliemie, cu eliminare exagerată de potasiu în urină;

— hiperaminoacidurie;

— tezaurizarea cistinei, mai ales în ficat (hepatomegalie), splină (splenomegalie) și în ganglioni (micropoliadenopatie). Din punct de vedere ocular se manifestă prin depozite de cristale de cistină în cornee. Transmiterea ereditară este de tip recesiv legată de sex.

B. TULBURĂRILE METABOLISMULUI GLUCIDIC

Tulburările *metabolismului glucidic*, cele mai importante, cu manifestări oculare sînt:

1. **Galactozemia și galactozuria.** Afecțiunea este determinată de imposibilitatea convertirii galactozei în glicogen, probabil datorită unei disfuncții enzimatice hepatice. Ca manifestări clinice generale se caracterizează prin pierdere în greutate și oprire în creștere, hepatomegalie (infiltrație grăsoasă și ciroză secundară), splenomegalie, un prag ridicat de galactoză în sînge și urină și albuminurie. La nivelul ochilor se manifestă prin cataractă cu caracter reversibil, datorită acțiunii toxice a galactozei asupra epiteliului cristalinian. Se transmite după modul autozomal recesiv.

2. **Diabetul,** cu manifestările sale oculare: cataracta și retinopatia; se transmite după modul autozomal, recesiv, sau dominant.

C. TULBURĂRILE METABOLISMULUI LIPIDIC

Tulburările *metabolismului lipidic* au ca manifestări clinice mai importante:

1. **Idioția amaurotică familială.**

a) Forma Tay-Sachs se manifestă prin: tulburări mintale, intelectuale și psihomotorii, prin tulburări neurologice (crize epileptiforme, paralizii musculare de tip spastic sau flasc) și prin semne oculare patognomonice: la nivelul regiunii maculare se observă un focar gri-alb, de mărimea unui diametru papilar, în centru cu o pată roșie ca cireașa și atrofie optică progresivă cu pierderea vederii. Se transmite după modul recesiv simplu, cu penetranță completă, sau după modul dominant neregulat sau intermediar.

b) Forma Vogt-Spielmeyer apare la adolescență și se manifestă prin aceleași simptome generale. Leziunile oculare sînt mai puțin caracteristice. Forma Vogt-Spielmeyer (juvenilă): transmitere autozomal-recesivă.

c) Formele congenitale, infantile tardive și presenile se transmit toate după modul recesiv simplu.

2. **Boala Niemann-Pick și Gaucher** au mai puțină importanță din punct de vedere oftalmologic.

3. **Xantomatozele**

a) Cele hipercolesterolemice se manifestă la ochi, prin xantelasmă și gerontoxon și se transmit dominant.

b) Cele normocolesterolemice se pot manifesta de asemenea prin xantelasmă și gerontoxon, cu transmitere dominantă (boala Hand-Schüller-Christian).

D. TULBURĂRILE METABOLICE ALE PORFIRINELOR

Tulburările *metabolice ale porfirinelor* (porfiriile și porfirinuriile) se manifestă la ochi, prin xeroftalmie, keratomalacie, nevrite optice. Cele acute se transmit după modul dominant, iar cele congenitale, cronice, după modul recesiv.

II. BOLI SISTEMICE CU MANIFESTĂRI OCULARE

A. BOLILE SISTEMULUI NERVOS CENTRAL

Au un caracter ereditar și sînt deosebit de numeroase și varite, aproape toate avînd și manifestări oculare mai mult sau mai puțin importante.

1. **Eredoataxiile** (boala Friedreich și boala Pierre Marie) se însoțesc de paralizii oculare, tulburări pupilare, nistagmus, nevrite retrobulbare, atrofii optice, degenerescențe tapetoretiniene, corioretinite, cataracte congenitale. Ereditatea este recesivă simplă sau dominantă și numai în mod excepțional recesivă legată de sex.

2. **Leuconevraxitele** (scleroza în plăci și neuromielita optică) se însoțesc de regulă de fenomene nevritice: retrobulbare sau papilite și de paralizii oculomotorii.

3. **Degenerescența hepato-lenticulară** (boala Wilson) se caracterizează, printre altele, prin prezența inelului Kayser-Fleischer în cornee. Boala are un caracter recesiv simplu.

4. Siringomielia (status disraphicus) se caracterizează prin prezența sindromului Claude Bernard-Horner și se transmite dominant.

B. BOLILE SISTEMULUI OSOS

Sînt fie generalizate, fie localizate la craniu și masivul facial sau la coloana vertebrală.

1. **Anomaliile generalizate** (sistematizate) se manifestă ocular, în marea lor majoritate, prin atrofii ale nervului optic:

a) Osteopetroza Alberts-Schönberg; se transmite recesiv simplu.

b) Osteita deformantă sau boala Paget; se transmite dominant autozomal, incomplet.

c) Disostoza cleidocraniană; se transmite dominant, avînd o penetranță ridicată.

2. **Anomaliile localizate:**

a) Disostozele craniofaciale se manifestă ocular prin: atrofii optice, exoftalmie, oftalmoplegie, strabism divergent etc.

— oxicefalia; se transmite dominant;

— disostoza craniofacială sau boala Crouzon; transmitere dominantă;

— distoza mandibulofacială (Franceschetti): se transmite dominant neregulat;

— hipertelorismul: transmitere dominantă sau recesivă.

b) Afecțiunile rahidiene:

— Spondilita rizomelică se caracterizează din punct de vedere ocular prin iridociclite plastice recidivante. Se transmite dominant simplu.

C. BOLILE CUTANATE

Se însoțesc adesea de manifestări la nivelul conjuctivei, corneei, cristalinului și retinei.

1. **Epidermoliza buloasă**, care se însoțește de leziunile similare celor cutanate la nivelul pleoapelor, conjunctivei și corneei, are o ereditate autozomal dominantă, regulată.

2. **Incontinentia pigmenti** (Boala Bloch-Sulzberger) se manifestă ocular prin pseudoglicom, cataractă congenitală și strabism, iar cutanat prin pigmentație cenușie-brună, dispusă în formă de striuri și în unele cazuri alopecie. Prezintă o ereditate dominantă.

3. **Sindromul Rothmund și sindromul Werner** se caracterizează din punct de vedere oftalmologic prin cataractă zonulară sau subcapsulară anterioară și posterioară (dermatogenă). Ereditatea este recesivă simplă sau dominantă neregulat.

D. BOLILE SÎNGELUI

Se manifestă din punct de vedere oftalmologic prin hemoragii și exsudate retiniene, precum și prin modificări vasculare retiniene.

1. **Hemofilia**, în mod obișnuit, nu se însoțește de manifestări oculare, dar în 20% din cazuri, ea se poate asocia cu discromatopsie. Se transmite după modul recesiv legat de sex.

2. **Anemia cu celule falciforme** (siclemia, falcemia, drepanocitoza): se manifestă cu hemoragii retiniene. Ereditatea este dominantă sau recesivă incompletă, cu manifestări clinice la heterozigoţi.

3. **Icterul hemolitic congenital** prezintă, din punct de vedere ocular, deschideri palpebrale mongoloide, microftalmie, heterocromie a irisului, miopie, discromatopsie şi cataractă congenitală. Se transmite dominant cu o penetranţă neregulată.

4. **Leucozele** se manifestă la nivelul ochiului prin retinopatii caracteristice şi inflamaţii iridociliare. Ereditatea este discutată, factorul genetic nefiind demonstrat. Se vorbeşte mai mult de o predispoziţie ereditară.

E. BOLILE ENDOCRINE

Au numeroase manifestări oculare. Ne vom limita însă la două:

1. **Boala Basedow** în care simptomul ocular dominant este exoftalmia. Ereditatea acestei boli nu este încă suficient de clară. Se pare că se transmite după modul recesiv, dar există numeroase cazuri dominante cu penetranţă şi expresivitate variabile.

2. **Hipoparatiroidia,** al cărei simptom ocular este cataracta tetanică, are de asemenea o ereditate incomplet elucidată. Se pare că se transmite după modul dominant.

III. SINDROAME CU MANIFESTĂRI OCULARE

A. SINDROAME CU PREDOMINANŢĂ MEZODERMICĂ

1. **Sindromul Marfan,** în care, alături de ectopia bilaterală a cristalinelor, se întîlnesc o multitudine de alte anomalii oculare, se transmite după modul dominant. În afara manifestărilor oculare, sindromul este caracterizat şi prin:

— oase lungi şi subţiri, îndeosebi oasele degetelor (arahnodactilie);
— hipoplazie cu hiperlaxitate sau contractură musculară;
— absenţa ţesutului grăsos subcutanat;
— tulburări trofice: deformare în pîlnie a toracelui, boltă ogivală, cifoscolioză, *scapulae alatae,* picioare plate;
— leziuni cardiace (persistenţa găurii ovale);
— malformaţii auriculare;
— habitus astenic, infantilism.

2. **Sindromul Marchesani,** caracterizat, din punct de vedere ocular prin sferofakie şi glaucom secundar; se transmite după modul dominant sau recesiv. Alături de leziunile oculare constatăm brahimorfie, brahicefalie, talie pitică, membre scurte, brahidactilie, mîini şi picioare late, limitarea mobilităţii articulaţiilor, musculatură şi ţesut grăsos subcutanat bine dezvoltate.

3. **Sindromul scleroticelor albastre** (Eddowes, van der Hoeve, Klejn) se caracterizează printr-o triadă simptomatică:

— sclerotice albastre, datorită transparenţei şi subţierii membranei;

— fragilitate osoasă, care favorizează producerea fracturilor spontane multiple şi hiperlaxitate articulară — cauza luxaţiilor sau subluxaţiilor mai ales la umăr şi la articulaţia coxo-femurală.

— surditate datorită fie otosclerozei, fie unei laxităţi în articulaţiile oscioarelor. Se transmite după modul dominant.

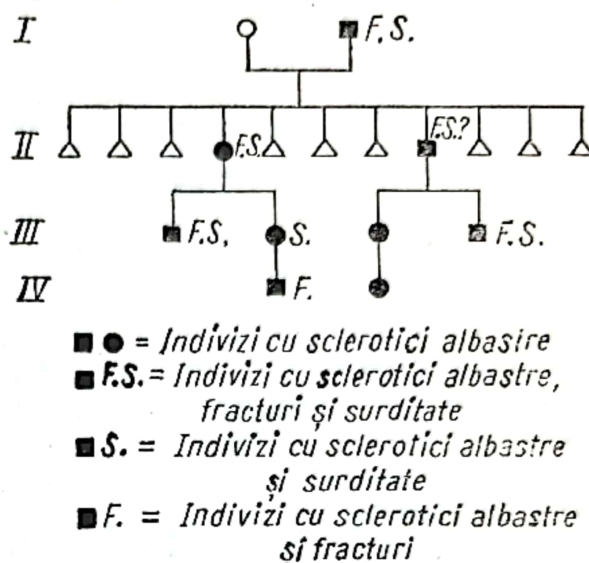


Fig. XIV, 1. Sindromul scleroticelor albastre (Păcurariu şi Florescu, Cluj med., 1948)

4. **Sindromul Groenblad-Strandberg-Touraine,** elastorexia sistematizată sau sindromul striilor angioide retiniene; se transmite după modul dominant sau recesiv simplu.

În afara leziunilor oculare se constată pseudo-xantomul elastic cutanat şi leziuni cardiovasculare: aortită, miocardită, ateroscleroză precoce, hipertensiune arterială juvenilă, arterite viscerale, cerebrale sau periferice.

B. SINDROAME PREDOMINANT ECTODERMICE

— **Sindromul Gougerot-Sjögren** se caracterizează, ocular, prin *„kerato-conjunctivitis sicca"*, cu fenomene de keratină filamentoasă şi diminuarea secreţiei lacrimale. Ereditatea incomplet elucidată se pare să fie recesivă, legată de sexul feminin.

C. SINDROAME PREDOMINANT NEUROECTODERMICE

1. **Facomatozele**

— *neurofibromatoza Recklinghausen;* se transmite după modul dominant;

— *scleroza tuberoasă Bourneville;* transmitere dominantă;

— *angiomatoza retinocerebeloasă sau boala von Hippel-Lindau;* se transmite dominant;

— *angiomatoza neuro-oculo-cutanată sau boala Sturge-Weber-Krabbe;* are de asemenea o transmitere ereditară dominantă.

2. **Sindromul Laurence-Moon-Bardet-Biedl:** se transmite după modul recesiv.

D. SINDROAME DIN BOLILE CROMOZOMIALE

Studiul cromozomilor în sindroamele malformative datează din anul 1959, cînd Lejeune, Turpin și Gauthier au descris prima anomalie cromozomială în mongolism. După convenția din Denver (1960), cromozomii sînt clasificați în 7 grupe (de la A la G), după mărime și poziția centromerului.

Cariotipul patologic se datorește fie modificării numărului de cromozomi, fie modificării structurii acestora.

ABERAȚIILE CROMOZOMIALE NUMERICE CU MANIFESTĂRI OCULARE:

a) **Anomaliile gonozomiale** sînt mai frecvente, nefiind letale:

1 α) *Sindromul Turner* (cariotip XO, lipsa corpusculilor Barr, ca la bărbat) se manifestă din punct de vedere ocular prin ptoză, nistagmus, strabism, tulburări de refracție, anomalii ale simțului cromatic (ca la bărbați).

β) *Sindromul Klinefelter* (cariotip XXV) nu se însoțește, de regulă, de nici o manifestație oculară.

b) **Anomaliile autozomilor:** sînt anomalii mai rare, dar cu o frecvență crescută a manifestărilor oculare, care însă nu sînt caracteristice din punct de vedere clinic, diagnosticul fiind posibil numai dacă ținem seama de contextul general clinic al bolnavului:

α) *Sindromul G (trisomia 21, mongolismul, sindromul Down),* cunoscut — ca tablou clinic — încă din 1866 (Down), a fost prima boală cromozomială

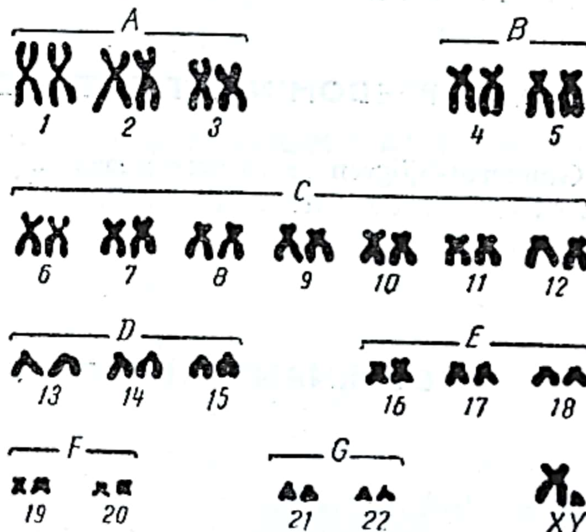


Fig. XIV, 2. Cariotip normal [*după Cagianut* (4)].

descrisă în 1959 (Lejeun, Gauthier și Turpin). Simptomele oculare cele mai importante sînt: pete porțelanoase pe suprafața irisului, strabism, nistagmus, epicant, cataractă, miopia forte, keratocon etc.

β) *Sindromul E (trisomia 18)* a fost recunoscut ca sindrom numai după descoperirea trisomiei 18, în 1960, de către Edwards și colab. și Patau

Simptomele oculare mai frecvente sînt: ptoza, microoftalmia, colobome iriene, atrofii optice, glaucomul congenital, tulburări corneene, fantă palpebrală oblică.

γ) *Sindromul D (trisomia 13—15)*, deși a fost cunoscut, ca manifestare clinică, încă din 1957 (Bartolini) anomaliile cromozomiale au fost descrise abia în 1960 de Patau și colab.

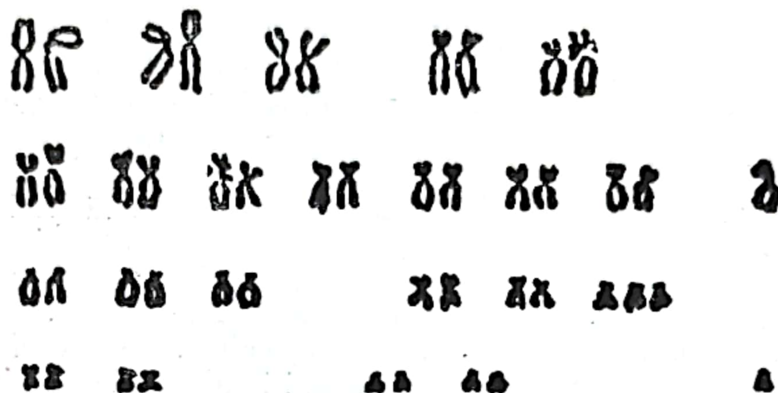


Fig. XIV, 3. Trisomia 18; cariotip [*după Cagianut* (14)].

Simptomele oculare sînt mai grave ca în toate celelalte boli oculare: anoftalmie, microoftalmie, colobome iriene, tulburări ale corneei, cataracte, membrane retrocristaliniene, colobome ale nervului optic etc.

2. ABERAȚIILE DE STRUCTURĂ ALE CROMOZOMILOR CU MANIFESTĂRI OCULARE

a) **Sindromul „țipătului de pisică“ („cri du chat“)** se caracterizează prin delațiunea parțială a cromozomului B 5 (E. Lejeun, 1964).

Simptome oculare: hipertelorism, fante palpebrale oblice, epicant.

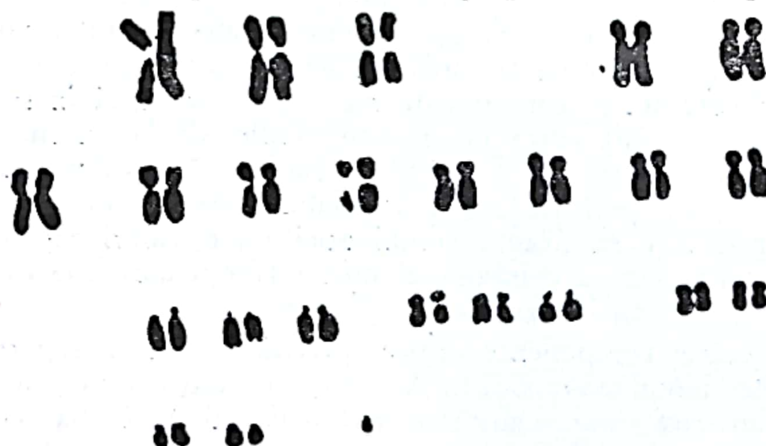


Fig. XIV, 4. Sindromul oculo-anal; cariotip [*după Cagianut* (4)]

b) **Sindromul oculo-anal** (se caracterizează prin prezența unui cromozom mic supranumerar, cu centromer submedian) (fig. XIV, 4).

Simptome oculare: hipertelorism, fantă palpebrală antimongoloidă, microoftalmie, colobom irian și coroidian.

IV. BOLI OCULARE PROPRIU-ZISE SAU COMUNE, CU CARACTER EREDITAR

A. ANOMALIILE CONGENITALE

În marea lor majoritate, anomaliile congenitale sînt datorite unor factori externi (peristatici), care prin intermediul mamei pot afecta germenele în diversele sale faze de dezvoltare (gametopatii, embriopatii, fetopatii). Leziunile celulelor germinale parentale pot da naştere unor mutaţii genice cu caracter transmisibil ereditar.

Între anomaliile congenitale ereditare şi cele de natură peristatică (fenocopii) nu există nici o diferenţă clinică.

În multe cazuri este greu să diferenţiem partea de contribuţie care revine factorilor ereditari şi celor peristatici în anomaliile de natură mixtă, al căror număr este poate mai mare decît al anomaliilor de natură genetică sau peristatică pură. Un factor genetic cu mai mică putere de manifestare poate fi influenţat de factorii de mediu în sensul creşterii sau scăderii penetranţei şi a expresivităţii sale.

Dintre anomaliile oculare cu caracter genetic 90% se transmit după modul recesiv.

O descriere, chiar foarte rezumativă a acestor anomalii oculare, ar depăşi cu mult cadrul acestei lucrări, de aceea ne rezumăm la cele cîteva date de generalităţi expuse.

B. TULBURĂRILE DE REFRACŢIE

Refracţia ochiului este rezultatul combinaţiei diferitelor componente optice, cum sînt: curbura corneei, profunzimea camerei anterioare, grosimea cristalinului, curburile acestuia şi lungimea axului antero-posterior al ochiului.

Nici una dintre aceste componente nu este o constantă în sensul strict al cuvîntului, fiecare putînd varia în anumite limite, de la un individ la altul. Refracţia totală a ochiului este diferită în funcţie de combinaţiile şi interacţiunile diferitelor componente optice variabile. Astfel, de exemplu, starea de ametropie poate fi rezultanta combinaţiei unor valori medii ale tuturor componentelor optice sau a combinaţiei unei refracţii corneene mari cu un ax antero-posterior scurt sau invers.

Valorile fiecărei componente optice, privită izolat, se repartizează după principiul curbei binominale Gauss. Valorile refracţiei totale însă se înscriu într-o curbă simetrică, mai îngustă şi mai înaltă decît curba binomială normală. În acest caz există deci un exces pentru valorile normale, adică pentru emetropie, într-o populaţie dată (fig. XIV, 5).

Componentele optice, cu excepţia lungimii axului anteroposterior al globului, nu sînt caracteristice nici pentru starea normală (emetropie), nici pentru diferitele ametropii, care rezultă din combinarea unor valori ce se sumează sau se neutralizează.

Cea mai mare parte a ametropiilor (2/3 din cazuri) este rezultanta combinațiilor diferitelor componente normal-variabile. În aproximativ 1/3 din cazuri (30,2%), ametropia se datorește unei lungimi anormale a axului anteroposterior al globului ocular.

Cu excepția miopiei maligne și a hipermetropiei, forte putem considera tulburările de refracție ca variante fiziologice ale refracției oculare.

Din punct de vedere *genetic*, refracția oculară prezintă cîteva caracteristici:

— fiecare componentă optică se transmite ereditar independent;

— fiecare se poate transmite după moduri diferite;

— se pare că la determinarea unei singure componente iau parte mai mulți factori genotipici (poligenie);

— factorul genetic este imposibil de studiat, dacă ținem seama numai de refracția totală a ochiului.

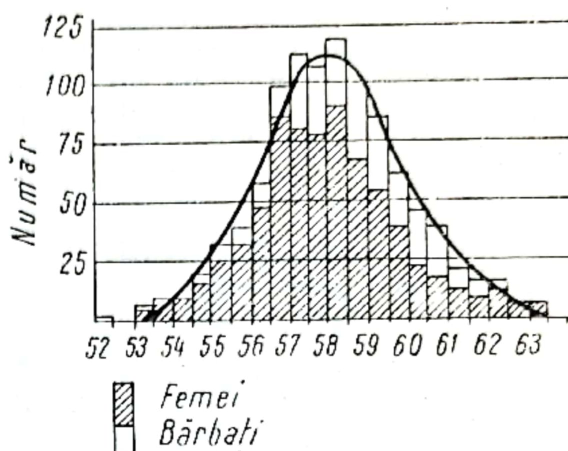


Fig. XIV, 5. Curba frecvenței refracției totale [*după François* (8)].

1. ASTIGMATISMUL ȘI REFRACȚIA CORNEANĂ

Ne oferă singurele date valabile asupra eredității diferitelor componente optice. La gemenii univitelini, diferența de refracție corneană între cei doi indivizi nu depășește 2 dioptrii, în timp ce la populația normală sau la gemenii bivitelini, această diferență poate să atingă și 10 dioptrii. Transmiterea ereditară a astigmatismului se face nu numai în ceea ce privește gradul acestuia, dar și în privința orientării axului.

Modul de transmitere este cel dominant autozomal, uneori neregulat. Unii au descris și un mod de transmitere recesiv sau legat de sex.

Din cauza identității astigmatismului la mai multe generații succesive, unii au avut ideea utilizării lui ca test în stabilirea paternității.

2. REFRACȚIA TOTALĂ

a) **Anisometropia** (diferența de refracție dintre cei doi ochi ai aceluiași individ); se transmite după modul dominant sau recesiv.

b) **Hipermetropia:** la gemenii univitelini, diferențele sînt neînsemnate. La populația normală și la gemenii bivitelini, diferențele sînt totdeauna mari, discordante. Identitatea hipermetropiei, la gemenii univitelini, persistă toată viața, ceea ce demonstrează că în acest caz factorii de mediu nu influențează evoluția hipermetropiei, fapt care reduce mult valoarea profilaxiei în combaterea acestei ametropii:

α) *Hipermetropia mică şi mijlocie* (pînă la +6 dptr) nu este decît o variantă normală a distribuţiei binomiale, conform curbei Gauss. Ea se transmite după modul dominant.

β) *Hipermetropia mare*, care este mai rară, apare mai ales la consangvini şi se transmite deci după modul recesiv, mai rar dominant.

c) **Miopia:** este ereditară într-o mare proporţie a cazurilor. Ea poate fi datorită şi unor factori peristatici, cum sînt: prematuritatea, afecţiunile oculare grave ale copilăriei (keratita flictenulară, sclerokeratitele etc.), care predispun la apariţia unor miopii axiale. După Weekers şi colab. (1956) ar exista o predispoziţie genetică pentru miopie, dar dezvoltarea acesteia ar depinde de factori de mediu, în cea mai mare parte, necunoscuţi. Miopia congenitală este o afecţiune foarte rară.

α) *Miopia mică şi mijlocie* (sub 6 dptr) este o variantă normală a distribuţiei binomiale. Ea are un caracter ereditar cert, fapt demonstrat de studiul gemenilor univitelini la care miopia nu variază sub influenţa factorilor de mediu. După François (1958), aşa-zisa miopie şcolară nu ar exista.

Miopia mică şi mijlocie se transmite ereditar, după modul dominaţiei autozomale sau după modul recesiv simplu. După Wold (1949), modul de transmitere a miopiei se supune următoarelor reguli:

— dacă nici unul din părinţi nu prezintă miopie, există totuşi posibilitatea ca 35% din descendenţi să fie miopi, ceea ce corespunde unei transmiteri recesive;

— dacă unul sau ambii părinţi sînt miopi, 49% din descendenţi sînt miopi, ceea ce corespunde unei transmiteri cu caracter dominant.

β) *Miopia mare* (peste —6 dptr) se transmite după modul dominant autozomal sau recesiv simplu.

Copiii născuţi din părinţi suferinzi de miopie forte în imensa majoritate a cazurilor sînt miopi. Există însă şi excepţii de la această regulă.

C. STRABISMUL

1. **Strabismul convergent** se transmite după modul dominant simplu şi dominant neregulat sau recesiv simplu, dar nici o dată legat de sex. (fig. XIV, 6).

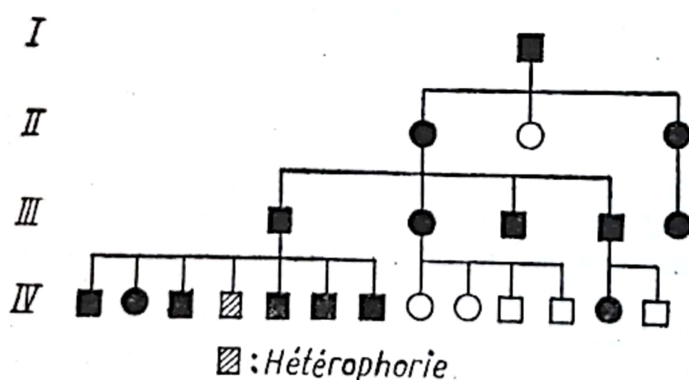


Fig. XIV, 6. Strabism convergent concomitent [după François (8)].

După Weekers şi colab. (1956) nu strabismul ca atare ar fi ereditar, ci tulburarea de refracţie (în special hipermetropia), strabismul nefiind decît o consecinţă a acesteia. Ambliopia strabică şi corespondenţa retiniană nu au caracter ereditar, ele fiind fenomene de adaptare la noile condiţii anormale.

În general, penetranţa genei este slabă şi expresivitatea

variabilă, mergînd de la o simplă heteroforie și slăbirea fuziunii la strabismul manifest intermitent sau permanent.

2. **Strabismul divergent** se transmite ereditar, independent de tulburarea de refracție, care poate fi miopia (60%$_{0}$ din cazuri) sau hipermetropia (40%$_{0}$). Ereditatea este de tip recesiv, di- sau poligenă, sau dominantă, neregulată, prin lipsă de penetranță. În realitate nu strabismul ca atare este ereditar, ci exoforia, pe baza căreia — sub influența unor factori exogeni, neereditari — poate să apară strabismul divergent.

D. CATARACTELE

1. **Cataractele congenitale:** se transmit de obicei după modul dominant. Există însă și excepții, transmiterea putîndu-se face și după modul recesiv-autozomal sau recesiv legat de sex (cataracta zonulară) (fig. XIV, 7):

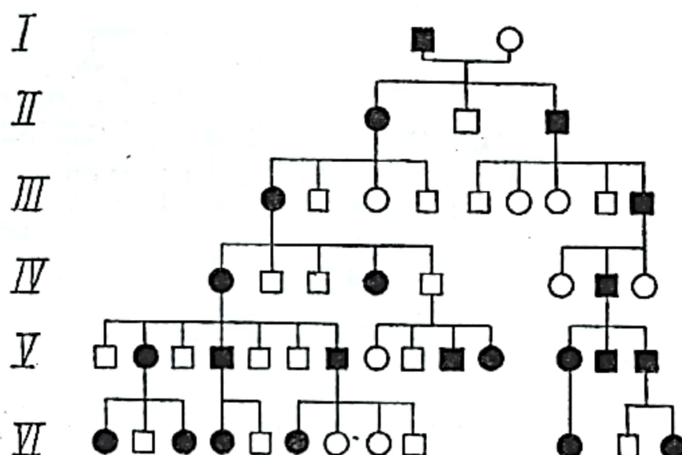


Fig. XIV, 7. Cataractă congenitală totală [*după François* (8)].

a) Cataracta totală se transmite mai des dominant, mai rar recesiv;

b) Cataracta capsulară și capsulolenticulară: transmitere dominantă regulată sau neregulată;

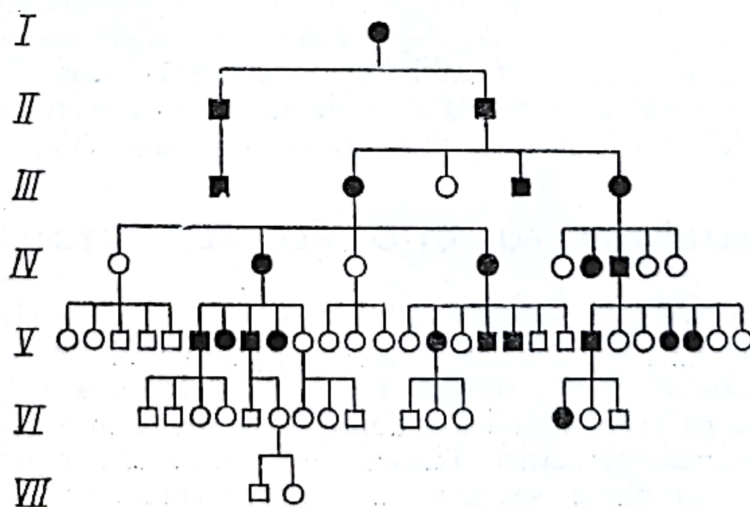


Fig. XIV, 8. Cataractă senilă cu ereditate dominantă [*după François* (8)].

c) Cataracta nucleară: transmitere dominantă, mai rar recesivă;
d) Cataracta zonulară: transmitere dominantă, excepțional recesivă.
2. **Cataractele juvenile** se transmit după modul dominant.
3. **Cataractele presenile și senile:** transmitere dominantă (fig. XIV, 8).

E. GLAUCOMUL

1. **Glaucomul congenital** prezintă o ereditate recesivă monomerică, controlată de sex și cu o penetranță variabilă. Consanguinitatea este frecventă. Boala apare atît familial, cît și în mod sporadic. Uneori, transmiterea îm-

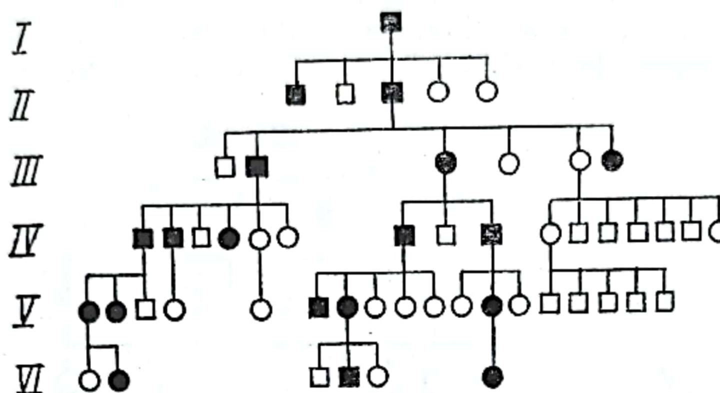


Fig. XIV, 9. Glaucom cronic simplu [*după François* (8)].

bracă un caracter de pseudodominanță (în caz de căsătorie între un homozigot și un heterozigot). Din punct de vedere genetic nu există nici o legătură între glaucomul primar al adultului și glaucomul congenital.

2. **Glaucomul primar** se transmite după modul dominant, uneori neregulat, dar și după modul recesiv. Din punct de vedere ereditar nu există nici o legătură între glaucomul simplu (cu unghi deschis) și glaucomul congestiv (cu unghi închis), fiecare formă transmițîndu-se independent una de alta. În aceeași familie, glaucomul are de obicei aceeași formă de manifestare clinică. S-au descris însă și cazuri de familii în care coexistă ambele forme de glaucom primar. Anticiparea, susținută de unii autori, fără a fi negată total în cazul glaucomului trebuie primită cu multă rezervă (fig. XIV, 9).

F. TULBURĂRILE FUNCȚIONALE ALE RETINEI

În această grupă sînt cuprinse acele tulburări funcționale ale văzului, care nu se însoțesc de nici o manifestare clinică organică, obiectivă.

Vederea normală, la om, necesită 4 opsine diferite: una în bastonașe (scotopsina), care ia parte la formarea rodopsinei, și 3 în conuri (fotopsine), pentru pigmenții vizuali cromatici. Fiecare din acestea este reprezentată de o genă diferită. Două din aceste gene sînt dispuse aproape una lîngă alta pe gonozomul X [opsinele pigmenților vizuali normali sensibili pentru roșu și ver-

de (R şi V)]. Gena responsabilă pentru culoarea albastră (A) este dispusă pe un autozom. Mutaţiile acestor gene vor da naştere fie la lipsa de formare a pigmenţilor (acromatopsie sau cecitate cromatică), fie la formarea incompletă a pigmentului (discromatopsii sau anomalii ale senzaţiei cromatice).

1. **Hemeralopia sau hesperanopia esenţială:** se transmite după modul dominant (fig. XIV, 10).

În caz că se asociază cu miopia, transmiterea ereditară poate îmbrăca forma recesiv-autozomală sau recesivă legată de sex.

2. **Acromatopsia congenitală completă sau totală;** transmiterea autozomală recesivă.

3. **Acromatopsia congenitală incompletă sau parţială** se transmite după modul recesiv legat de sex. Aceasta este valabil însă numai pentru cecitatea la culorile roşie şi verde (1%, respectiv 2% din bărbaţi). Cecitatea pentru albastru-violet este transmisă după modul dominant neregulat autozomal. Ea este însă mult mai rară ca cea pentru roşu şi verde (1:20 000, dintre care 40% sînt femei). Aceste persoane au o vedere dicromată şi nu tricromată.

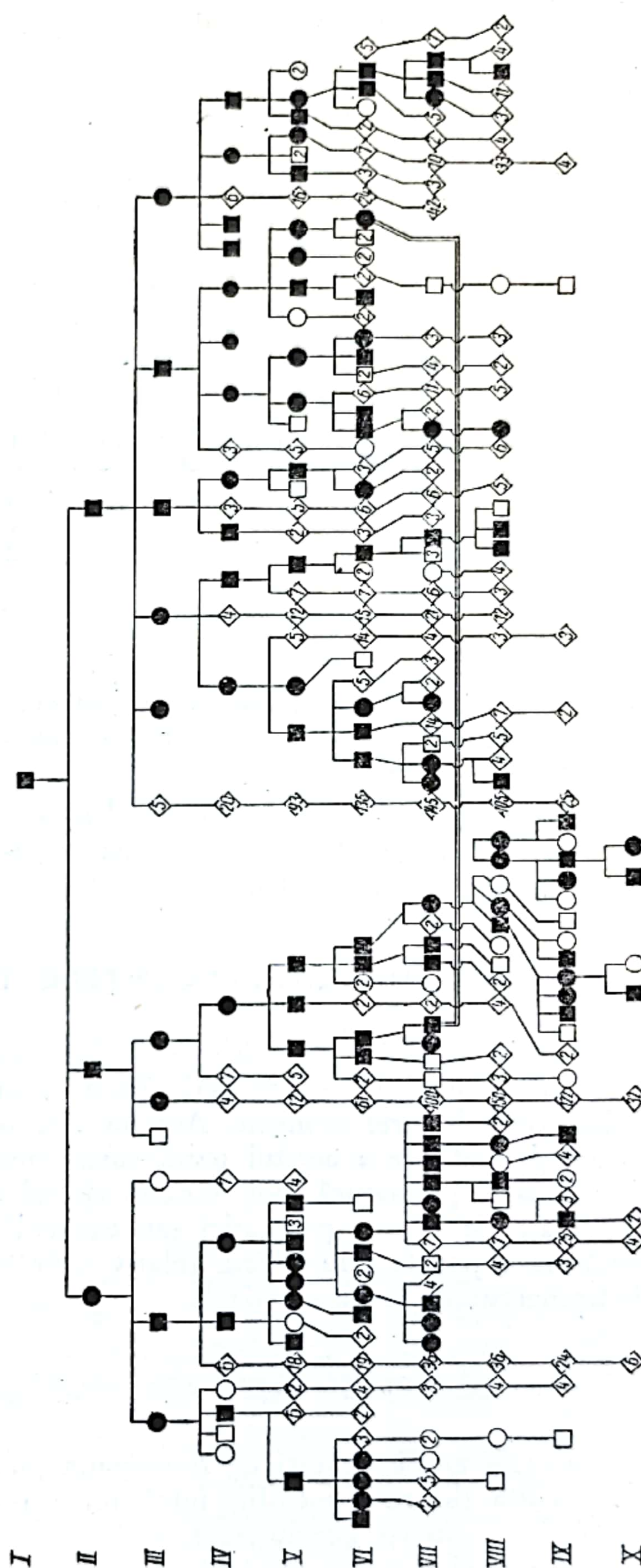


Fig. XIV, 10. Hemeralopie esenţială cu ereditate dominantă (familia Nougaret) [*după François* (8)].

4. **Discromatopsiile congenitale sau anomaliile cromatice** sînt mult mai răspîndite. Persoanele afectate au o vedere tricromatică, dar asortarea culorilor o fac defectuos. Unul din cele trei mecanisme cromatice este în mod anormal puțin sensibil.

Bărbații sînt discromatopi în proporție de 4—8%, în timp ce femeile numai în proporție de 0,4%. Ele sînt heterozigote într-o proporție de 1/7. În

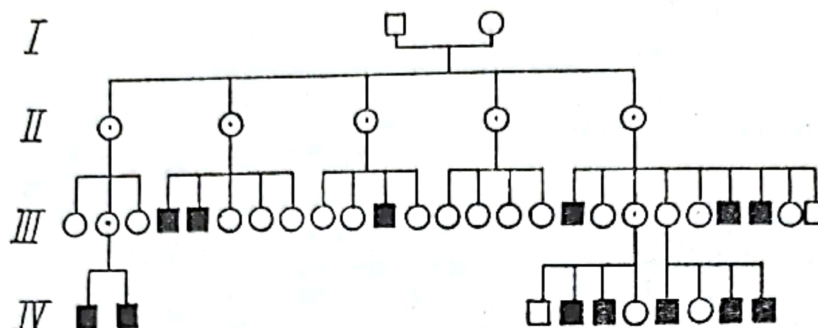


Fig. XIV, 11. Ereditate recesivă legată de sex în discromatopsie [*după François* (8)].

unele cazuri, la heterozigoți, pot fi puse în evidență — cu ajutorul anomaloscopului sau al fotometrului Pulfrich — anumite tulburări discrete ale simțului cromatic.

Transmiterea ereditară este recesivă legată de sex (fig. XIV, 11):
— tatăl nu transmite niciodată gena patologică fiilor săi;
— ea este transmisă însă tuturor fiicelor.

G. EREDODEGENERESCENȚELE TAPETORETINIENE

Prin eredodegenerescență tapeto-retiniană sau abiotrofie a neuro-epiteliului retinian se înțelege o destrucție parțială sau totală a țesutului, normal dezvoltat pînă în acel moment. Aceasta este o consecință a unei fragilități înnăscute și ereditare a acestui țesut, care-i limitează în timp viața și-i cauzează o moarte prematură. Nu intră în cadrul eredodegenerescențelor fenocopiile cauzate de factori peristatici sau exogeni (embriopatiile datorite rubeolei etc.), care pot fi diferențiate relativ ușor pe baza examenului ERG (în eredodegenerescențe dispare unda *b*).

1. DEGENERESCENȚELE TAPETORETINIENE PERIFERICE

În această grupă, alături de retinopatia pigmentară tipică, afecțiunea cea mai frecventă dintre abiotrofii, intră toate retinopatiile atipice, cu și fără pigment, localizate și generalizate, retinopatiile albescente, atrofia girată a coroidei și retinei, coroideremia, sclerozele coroidiene etc.

Ne vom ocupa, în cîteva cuvinte, numai de forma cea mai cunoscută:

a) **Retinopatia pigmentară generalizată:** se transmite după modul recesiv simplu (uneori sub forma unei „pseudodominanțe"). Mai rar, dar nu excepțional, transmiterea poate fi dominantă, uneori neregulată. În mod cu totul

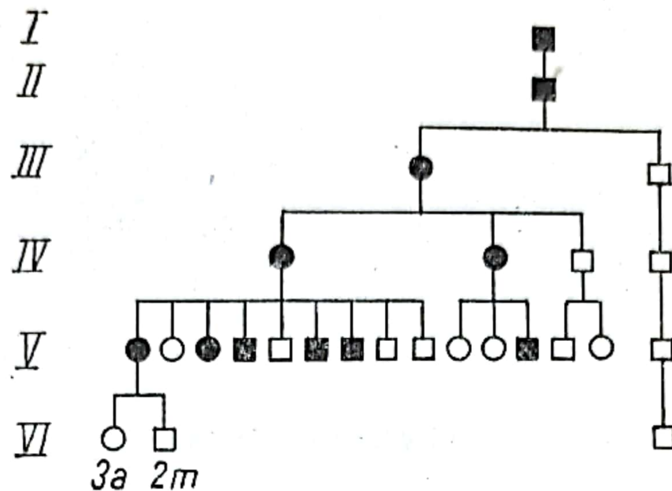


Fig. XIV, 12. Retinopatie pigmentară cu ereditate dominantă [*după François* (8)].

excepțional se poate observa și o ereditate legată de sex (transmitere recesivă, intermediară sau dominantă, eventual recesivă, incomplet legată de sex) (fig. XIV, 12).

2. DEGENERESCENȚELE TAPETO-RETINIENE CENTRALE (MACULARE)

a) **Forma congenitală** sau infantilă de tip Best se transmite după modul dominant neregulat.

b) **Formele juvenilă** (tip Stargardt), *adultă* (tip Behr) și *senilă* se transmit recesiv simplu în cea mai mare parte a cazurilor, dominant destul de frecvent, iar recesiv legat de sex mai rar.

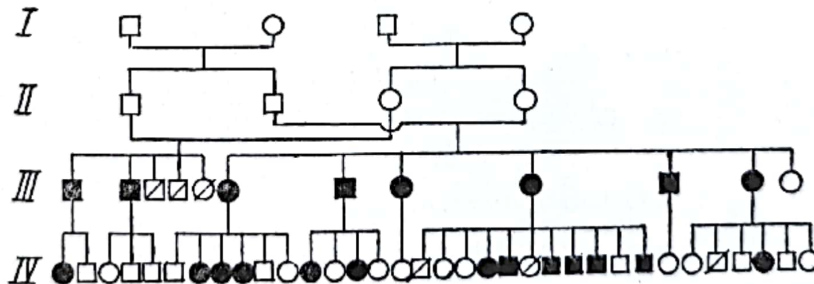


Fig. XIV, 13. Malattia leventinense. Ereditate dominantă [*după François* (8)].

c) **Malattia leventinense,** o afecțiune degenerativă centrală a retinei care se întîlnește în Elveția romandă, în jurul văii Leventina, se transmite după modul dominant (fig. XIV, 13; XIV, 14).



Fig. XIV, 14. Aspectul fundului de ochi în *malattia leventinense*.

H. RETINOBLASTOMUL

Această tumoare malignă care interesează copiii de la 1 la 4 ani, mai ales, a cărei frecvenţă variază de la 1:15 000 la 1:30 000 de naşteri, apare la ambii ochi — simultan sau succesiv — într-o proporţie medie de 25% (Vogel, 1965). Caracterul său ereditar şi familial este cunoscut încă de mult, dar studii sistematice asupra acestei probleme s-au făcut în ultimele decenii. Astfel, Franceschetti (1930) a stabilit caracterul dominant autozomal al eredităţii gliomului, cu o penetranţă de 80%. Totuşi, modul recesiv de transmitere

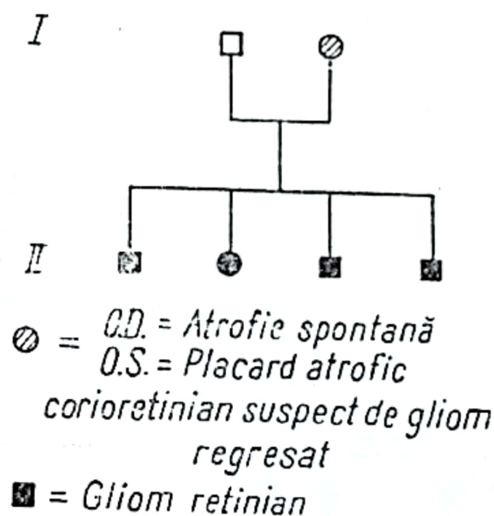


Fig. XIV, 15. Familie cu gliom retinian (*Mărgescu şi colab.*, Oftalmologia, 1962).

nu poate fi exclus cu desăvîrşire (Schappert-Kimmijser şi colab., 1966). Se consideră că toate cazurile bilaterale sînt ereditare, dar boala nu se manifestă la descendenţi în unele cazuri, din cauza penetranţei incomplete a genei patologice. Explicarea lipsei de apariţie a bolii la descendenţi ar putea fi dată şi de mutaţii somatice (Schappert-Kimmijser şi colab.).

În Clinica de oftalmologie din Cluj au fost observate de Mărgescu și colab. (1962) 4 cazuri de gliom familial, descendenți dintr-o mamă care în copilărie a suferit de gliom retinian regresat spontan (fig. XIV, 15).

V. MANIFESTĂRI OCULARE LA HETEROZIGOȚI (CONDUCTORI DE GENE). SIMPTOME MINIMALE — INDICATORI

Dominanța și recesivitatea nu sînt noțiuni antagoniste ci, mai curînd, limitele extreme ale unei serii continue (Duke-Elder, 1962). Așa se poate explica existența unor gene care nu sînt nici dominante, nici recesive, producînd fenotipuri intermediare la femeile heterozigote, în caz de ereditate intermediară legată de sex. În unele cazuri, acești heterozigoți sînt complet normali, atît organic, cît și funcțional. În alte cazuri însă ei prezintă anumite mici anomalii, pe baza cărora noi putem identifica heterozigoții și lua măsuri eficiente de profilaxie.

A. HETEROZIGOȚII PENTRU O GENĂ INCOMPLET RECESIVĂ

1. EREDITATE INTERMEDIARĂ, LEGATĂ DE SEX

a) **Coroideremia:** este abiotrofie precoce a coroidei care determină atrofia și dispariția progresivă a vaselor coroidiene de la periferie spre centru. Din punct de vedere funcțional apare o hemeralopie evidentă și o strîmtorare progresivă a cîmpului vizual periferic, bolnavul ajungînd treptat la cecitate. La bărbat apar tulburări funcționale și organice din tinerețe. La femeia heterozigotă nu apare nici un semn subiectiv, ci numai unele modificări discrete la periferia retinei.

b) **Retinopatia pigmentară legată de sex:** la bărbat apare o retinopatie pigmentară tipică și o scleroză coroidiană progresivă, care duce la cecitate completă. La femeia heterozigotă (conductoare), apare numai un reflex tapetoretinian macular și perimacular anormal, care se estompează spre periferia cîmpului oftalmoscopic. Tulburările funcționale (acuitate, cîmp, hemeralopie) sînt absente.

c) **Albinismul ocular legat de sex:** se caracterizează prin localizarea strict oculară, prin scăderea vederii, nistagmus și mișcări ritmice ale capului. La femeia heterozigotă: apare un iris ceva mai diafan, deși în aparență este normal, cu aspectul normal al regiunii maculare, dar cu tulburări de pigmentare la periferia retinei, fără nici o tulburare funcțională.

d) **Tulburările simțului cromatic:** discromatopsiile sînt prezente la bărbați în proporție de 8% (fie tipul protan, fie cel deutan). La femei, în majoritatea cazurilor, aceste tulburări nu sînt evidente, dar pot fi puse în evidență

(fie cu ajutorul anomaloscopului, fie cu cel al fotometrului Pulfrich), unele tulburări sau mai bine zis devieri spre una sau alta din aceste anomalii, fără a depăşi însă limitele normalului.

2. EREDITATEA AUTOZOMALĂ RECESIVĂ

Heterozigotul, aparent normal, este mult mai frecvent ca homozigotul, fenotipic manifest. Unii dintre heterozigoţi însă nu sînt complet normali din punct de vedere fenotipic. Se constată semne „minore", fruste sau „intermediare" de boală, care sînt de mare importanţă diagnostică şi prognostică:

a) **Idioţia amaurotică juvenilă:** la heterozigot se manifestă printr-o creştere a leucocitelor vacuolizate din sînge.

b) **Albinismul:** la heterozigot se prezintă printr-un iris ceva mai diafan, fără o depigmentare aparentă.

c) **Boala Wilson la heterozigot** poate fi prezentă numai prin excreţia urinară a unor aminoacizi specifici, a prezenţei izolate a inelului Kayser-Fleischer sau prin tulburări în sinteza ceruloplasminei.

d) **Cheratoconul:** poate să se manifeste la heterozigoţi numai prin existenţa unui astigmatism cornean de un grad mai mare.

e) **Sindromul Laurence-Moon-Bardet-Bield:** la heterozigot poate fi prezent numai prin semnele minore ale sindromului: obezitate, polidactilie, surdomutitate etc.

B. HETEROZIGOŢI PENTRU GENE AUTOZOMALE DOMINANTE CU MANIFESTARE TARDIVĂ

1. **Glaucomul primar:** poate să nu se manifeste mult timp decît în urma probelor de provocare, a examenului tonografic sau a gonioscopiei.

2. **Distrofia epitelială Fuchs:** are o dominanţă neregulată, cu o penetranţă incompletă. Heterozigotul prezintă: *corneea guttata* sau cute ale endoteliului cornean.

C. HETEROZIGOŢI PENTRU GENE CU PENETRANŢĂ INCOMPLETĂ SAU CU O EXPRESIVITATE DIMINUATĂ

1. FACOMATOZELE

a) *boala Recklinghausen:* la heterozigoţi se manifestă prin cîteva pete cutanate, culoarea *„cafelei cu lapte"*;

b) *scleroza tuberoasă sau boala Bourneville:* apare, la heterozigoţi sub forma unor adenoame sebacee sau tulburări psihice;

c) *angiomatoza retino-cerebrală sau boala v. Hippel-Lindau:* poate să se manifeste numai ca o angiomatoză retiniană izolată;

d) *angiomatoza neuro-cutanată sau boala Sturge-Weber-Krabbe:* poate avea ca singură manifestare, un *naevus flammaeus* al pielii feţei.

2. SINDROMUL MARFAN

Poate să se manifeste numai cu subluxaţie izolată a cristalinelor (a nu se confunda cu subluxaţia din homocistinurie), cu arahnodactilie izolată sau cu cardiopatie congenitală.

3. SINDROMUL SCLEROTICELOR ALBASTRE SAU SINDROMUL VAN DER HOEVE

Apare la heterozigoţi sub forma culorii albastre a scleroticelor, fără alte semne caracteristice (fragilitate osoasă, surditate etc.).

BIBLIOGRAFIE

1. Badke G. — Die Missbildungen des menschlichen Auges, Der Augenarzt vol. IV, Ed. G. Thieme, Leipzig, 1961, p. 2—23.
2. Bell — (cit. Duke-Elder).
3. Blach R. K., Barrie J. — *Brit. J. Ophthal.*, 1968, 52, 718—719.
4. Cagianut B. — Augenbefunde bei Chromosomkrankheiten, *Ophthalmologica (Basel)*, 1968, 155, 148—166.
5. Duke-Elder, sir St. Heredity — System of Ophthalmology, Ed. H. Kimptom, Londra 1952, VII, 1—113.
6. Edwards şi colab. — (cit. Cagianut).
7. Franceschetti A., François I., Babel J. — Les hérédo-dégénerescences chorio-rétiniennes (dégénerescences tapéto — rétiniennes), vol. 2, Ed. Masson, Paris, 1963, p. 1 709.
8. François J. — L'hérédité en ophtalmologie, Ed. Masson, Paris, 1958, p. 870.
9. Heimann K. — Histopathologische Augenveränderungen beim D_1 — (13—15) Trisomie-Syndrom, Genetik Ein Beitrag zur Ätiologie okularer Missbildungen, „Bücherei des Augenarztes" 50, Stuttgart, 1968 p. 66—81.
10. Lejeune — (cit. Cagianut).
11. Lejeune, Turpin, Gauthier — (cit. Saraux).
12. Manschott W. A. — Die kongenitale primare Aphakie in genetischen Sicht, *Klin. Mbl. Augenheilk.*, 1969, 154, 1—11.
13. Nettleship. — (cit. Duke-Elder).
14. Patau şi colab. — (cit. Saraux).
15. Rieger H. — Erbpathologie des Auges, Der Augenarzt, vol. I, Ed. Thieme, Leipzig, 1958, p. 125—241.
16. Saraux H. — Signes oculaires des maladies par aberrations chromosomiques, *Bull. Soc. Ophtal. Paris*, 1968, 68, 571—579.
17. Schade H. — Korrelationen zwischen Chromosomaberrationen und klinischen Status, Genetik, Ein Beitrag zur Ätiologie okularer Missbildungen, Bücherei des Augenarztes, nr. 50, p. 23—44 Enke, Stuttgart, 1968.
18. Sorsby A. — Genetically determined anomalies Modern Ophthalmology, vol. II, Ed. Butterworts, Londra, 1963, 33—75.
19. Wald D. — Molecular Basis of Visual Excitation, *Science*, 1968, 162, 230—239.
20. Weekers şi colab. (1956) — (cit. François).
21. Wold — (cit. François).

Capitolul al XV-lea

ERORILE ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM

Octavia Mărgineanu

Ca o consecință directă a progreselor realizate în domeniul cercetărilor biochimice la nivel molecular, s-a ajuns la dezmembrarea de entități etionosografice precise din grupa mare a bolilor așa-zise „idiopatice".

Genetica metabolică a permis conturarea în ultimele decenii a unui nou capitol de patologie, acela al „erorilor înnăscute de metabolism".

Dacă în ultimul timp, unele îmbolnăviri au îmbrăcat aspecte clinice noi datorită modificărilor condițiilor ecologice, epidemiologice și bacteriologice, erorile înnăscute de metabolism sînt noi prin faptul că ele au fost recunoscute și descrise mai recent. Denumirea aparține lui Garrod care, în 1902, descriind alcaptonuria demonstrează în același timp că fiecare genă intervine într-un proces biochimic specific al metabolismului celular (4,16). Ulterior au fost semnalate o serie de alte tulburări metabolice provocate de lipsa congenitală a unor enzime absolut necesare metabolismului intermediar normal, care au fost incluse, pe baza mecanismului patogenic comun, în același cadru de patologie.

Pentru a sublinia legătura dintre gena mutantă și anomalia moleculară corespunzătoare, Pauling le-a numit „boli moleculare".

Avînd în vedere faptul că funcționalitatea intrinsecă a fiecărei celule este tulburată în cadrul unei asemenea îmbolnăviri, termenul generic dat de Waldenström de „patologie fundamentală" (18) subliniază o dată mai mult importanța clinică a entităților morbide care pot fi încadrate aici.

Fiind vorba despre un număr mare și mereu în creștere, o clasificare valabilă a bolilor moleculare este greu de stabilit. Aceasta și pentru faptul că actualele noastre cunoștințe în domeniul vast al biochimiei dinamice umane sînt fragmentare, iar în unele dismetabolii ignorăm chiar tulburarea biochmică specifică, genetic determinată, care caracterizează afecțiunea.

O clasificare provizorie, de utilitate practică, este cea făcută de Stambury, Wyngarrden și Fredrickson, în 1960, care are la bază criterii chimice, grupînd bolile după metabolismul interesat.

După natura intimă a procesului molecular, anomaliile metabolice congenitale pot fi enzimatice și neenzimatice. Ultimul grup cuprinde tulburările

metabolismului celular determinate de modificarea unei molecule neenzimatice, cel mai adesea fiind vorba de schimbarea în secvenţa unor aminoacizi, ceea ce determină apariţia unor compuşi străini organismului. Exemplul clasic este anemia cu celule falciforme, în care acidul glutamic este înlocuit cu valina, dînd o hemoglobină anormală.

Anomaliile moleculare enzimopatice se pot produce prin mecanisme diferite: prin blocaj metabolic, cînd datorită absenţei sau sintezei insuficiente a enzimei respective se ajunge la acumularea metabolismului precursor, care are efect toxic şi duce la leziuni variate de organ. Din acest grup fac parte: galactozemia, fenilcetonuria şi alte boli de stocaj. Alteori, prin blocaj, se ajunge la lipsa de sinteză a unui element terminal esenţial pentru organism, cum ar fi: absenţa pigmenţilor melanici în albinism prin deficit în tirozinază sau absenţa hormonului tiroidian în anomaliile congenitale ale sintezei hormonului.

Un alt mod de producere a bolilor moleculare enzimatice este prin tulburarea mecanismului de transport la nivel de membrană, a tubilor renali sau a peretelui intestinal. Rahitismul vitamino-rezistent este generat de lipsa de absorbţie a calciului la nivelul intestinului şi de retroresorbţie a fosforului la nivelul tubilor. În sindromul de Toni-Debré-Fanconi, este tulburată retroresorbţia concomitentă a fosforului, aminoacizilor şi a glucozei. Consecinţele patologice ale anomaliilor de transport sînt variabile: uneori extrem de benigne (glicozuria renală), alteori severe sau foarte severe (alactazia, sindromul de Toni-Debré-Fanconi).

Conceptul lui Beadle, emis în 1945, „o genă = o enzimă", perfectat apoi „o genă = un polipeptid" (4,18) nu satisface totdeauna explicarea manifestărilor clinice ale unei anomalii genetice. Numeroase boli ereditare constau într-o asociere de tulburări ca dovadă a efectului pleiotropic al genei mutante. Efectul primar şi unic al genei se poate manifesta prin alterări variabile după organe şi sisteme (de exemplu în gargoilism s-au pus în evidenţă două substanţe de depozitare: glico-lipidică în sistemul nervos central şi mucopolizaharidică în ficat). Dacă se apreciază însă structura intimă a acestor molecule, se constată că tulburarea este unică, interesînd hexozamina care le este comună (Brante, Klenk) (1).

Dacă polipeptidul lipseşte în totalitate, sinteza enzimei nu are loc. Procesele metabolice pe care această enzimă le dirijează vor fi deviate în aşa măsură de la normal, încît clinic tulburarea va avea o expresie majoră. În acest sens, lipsa totală a lactazei duce la forma clinică majoră de alactazie cu caracter letal.

Dar în afară de calităţile intrinseci ale genei, de dozajul genei (hetero- sau homozigoţia), conceptele de penetranţă şi expresivitate în genetica umană sînt în funcţie de influenţele peristazei, factori accesibili intervenţiei medicale (2, 4, 16). De exemplu un regim fără lapte poate duce la lipsa de expresivitate a defectului genetic şi transformă o afecţiune neviabilă într-una viabilă. Demonstrativă este şi hemocromatoza (tegumente pigmentate, cianoză şi diabet). După criteriile clasice, gena mutantă ar avea o penetranţă slabă la femei şi variabilă la bărbaţi. În realitate, ea determină la toţi aceeaşi absorbţie excesivă de fier, dovedită prin sideremia la fel de crescută, dar la fetiţe după pubertate ea este compensată prin pierderile menstruale, ceea ce evită supra-

încărcarea și consecințele sale. Un alt exemplu concludent de felul cum se conturează clinic o boală ereditară moleculară este boala Hartnup, în care se realizează un blocaj al metabolismului intermediar al triptofanului cu eliberare în cantitate mare de produși indolici, răspunzători de tulburările neurologice și de ataxia cerebeloasă. Flora bacteriană intestinală favorizează și ea eliberarea de indol. Dacă se înlătură bacteriile prin neomicină, dispare ataxia cerebeloasă (2, 18).

Variațiile gradului de penetranță a genei sînt răspunzătoare de diferențele fenotipice ale genotipurilor care poartă aceeași genă mutantă. Purtătorii unei aceleiași boli moleculare pot prezenta diferențe individuale în simptomatologia clinică, de la absența completă a tuturor semnelor funcționale și fizice pînă la tabloul unei îmbolnăviri grave de durată variabilă.

Expresivitatea mutației genetice din punctul de vedere al clinicianului depinde și de locul pe care defectul enzimatic îl ocupă în metabolismul intermediar (pentru sugar, absența lactazei duce la imposibilitatea scindării lactozei cu tulburări digestive și de nutriție imediate și severe, în timp ce lipsa galactozo-1-fosfaturidiltransferazei, care intervine în metabolizarea celulară a galactozei, se manifestă clinic printr-o suferință generală interesînd organele vitale). Lipsa enzimei nu este factor letal în sine, ea produce o boală severă clinic manifestă, care poate avea sfîrșit letal datorită tulburărilor secundare ale funcțiilor organelor centrale (creier, ficat, rinichi).

Alteori, defectul enzimatic devine manifest clinic numai în momentul în care lanțul metabolic deficitar este angajat într-un proces de apărare sau de detoxifiere (ex. purtătorii hemoglobinei Zürich sau ai deficitului în glucozo-6-fosfatdehidrogenază, sensibili la medicamente de tipul sulfamidelor sau antipaludicelor, în contact cu acestea fac anemia hemolitică).

Pentru clinician, un domeniu mai greu de abordat este acela de a preciza tipul de transmisie ereditară a erorii înnăscute de metabolism. Dominanța sau recesivitatea este diferită, potrivit punctului de vedere conform căruia este privit cazul: la sugarul cu galactozemie ai căror părinți sînt asimptomatici, caracterul pare să fie de tipul recesiv. Investigațiile biochimice arată însă lipsa totală a enzimei în eritrocitele copilului și lipsa parțială la părinți. Din punctul de vedere al biochimistului, defectul enzimatic are caracter dominant. Astfel, noțiunile de dominanță și recesivitate privesc efectele genelor și diferențele lor fenotipice. În aceste condiții, Lamy și Frezal propun să se vorbească de „manifestare variabilă a genelor“ ea depinzînd de cantitatea materialului genetic și de multiplii factori genetici sau de mediu (11).

Plecînd de la aceste premise teoretice, întrebarea ce se impune în primul rînd în practică este: cum se manifestă o enzimopatie congenitală, mai precis o boală moleculară la copil? Cele mai multe determină apariția unor simptome generale necaracteristice, ca: dezvoltare somatică insuficientă, hipotonie musculară, defecte psihice și ale organelor de simț. Altele însă merg cu simptome tipice determinate de natura metabolismului deranjat și de locul pe care enzima îl ocupă în procesul metabolic.

În expunerea de față mă voi referi în special la aspectele clinice și terapeutice ale îmbolnăvirilor provocate de defectele înnăscute de metabolism, la

vîrsta copilăriei. Voi selecta pentru exemplificare din fiecare grup pe cea mai expresivă sau pe aceea care pune probleme de diagnostic diferenţial şi cu deosebire mă voi referi la cazurile pe care am avut ocazia să le diagnosticăm în clinica noastră în ultimul deceniu.

Anomaliile genetice ale metabolismului glucidic pot realiza fie un sindrom de malabsorbţie prin lipsa congenitală a unei enzime care intervine în procesul de scindare, a dizaharidelor, fie o boală de tezaurizare cînd lipseşte enzima care intervine în degradarea intermediară a hidraţilor de carbon, fie o simplă melituric prin defect de retroresorbţie tubulară (4, 5).

Cea mai expresivă dintre enzimopatiile enterale este dizaharidoza descrisă de Durand, în 1958, ca intoleranţă la lactoză şi de Holzel, cu 1 an mai tîrziu, ca alacatazie. Dacă pînă acum un deceniu foloseam de la catedră dictonul „o mamă sănătoasă poate şi este chiar obligată să-şi alăpteze copilul propriu", înţelegînd prin aceasta că nu există motiv de contraindicaţie la alimentaţia naturală, astăzi sîntem în situaţia să atragem atenţia asupra existenţei acestui sindrom de intoleranţă la lactoză. Cazuistica noastră însumează, în decurs de 6 ani, 4 cazuri (2 cazuri cu expresivitate maximă şi caracter letal şi 2 cazuri cu evoluţie benignă). La sindromul de malabsorbţie cu scaune multiple, diareice, acide, fără steatoree, se adaugă rapid sindromul de malnutriţie, determinînd instalarea unei distrofii severe. Confirmarea diagnosticului o face prezenţa lactozei în urină.

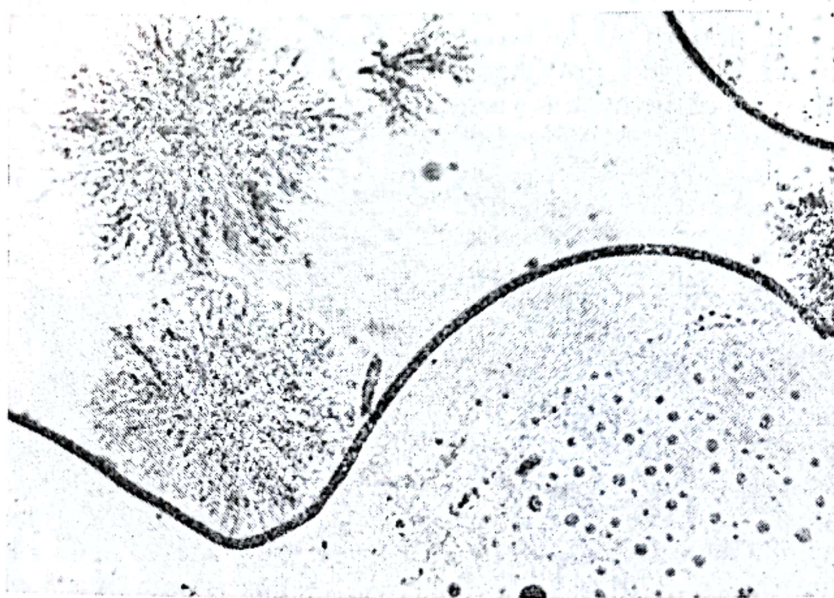


Fig. XV, 1. Evidenţierea lactozazonelor prin proba cu fenilhidrazină.

Important pentru diagnostic este aspectul patologic plat al curbei de încărcare *per os* cu lactoză.

Valoare diagnostică mai are şi proba terapeutică: scoaterea laptelui din alimentaţie duce la normalizarea scaunelor, dispariţia corpilor reductori în urină şi ascensiunea curbei ponderale.

Caracterul ereditar s-a putut stabili la 2 dintre cazuri, prin evidențierea curbei patologice la încărcarea cu lactoză la mame, urmată de un tranzit intestinal modificat.

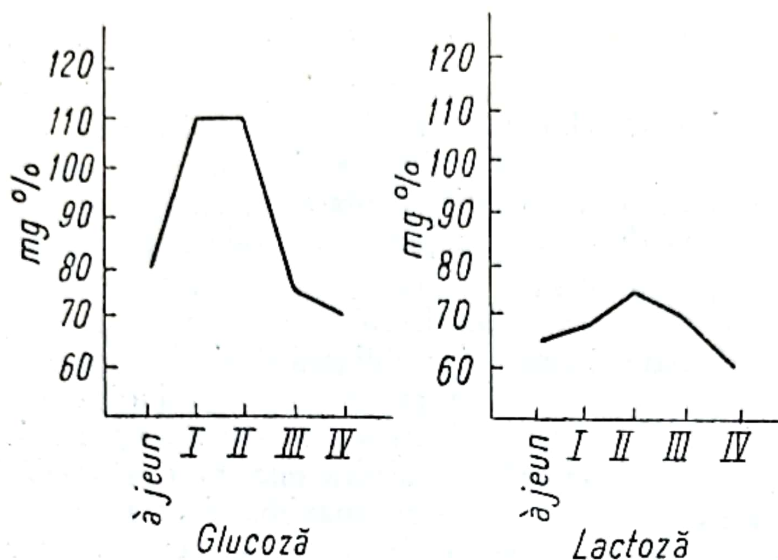


Fig. XV, 2. Curba glicemiei: normală la încărcarea *per os* cu glucoză și plată la lactoză

Faptul că nu în toate cazurile sindromul diareic apare în primele zile după naștere, s-ar explica după unii autori prin posibilitatea de sintetizare de către organismul matern al lactazei, așa încît abia după un timp, anomalia devine manifestă în toată gravitatea ei. Alteori, deficitul enzimatic poate fi numai parțial, ceea ce permite sugarului să suporte o anumită cantitate de lactoză și simptomatologia clinică să fie mai estompată (19, 20).

Diagnosticul se impune precoce, căci deshidratarea, hipotrofia cu riscul suprainfecției, amenință viața sugarului.

Dacă pînă nu de mult prezența unui icter la nou-născut ridica doar cîteva probleme de diagnostic diferențial, astăzi se cunosc cauze și mecanisme multiple, care duc la apariția acestui sindrom. Persistența unui icter în prelungirea celui „fiziologic" impune și prezumția unui icter enzimopatic din galactozemia congenitală. Defectul congenital constă din lipsa galactozo-1-uridiltransferazei, blocîndu-se astfel primul din cele trei stadii metabolice ale galactozei. Manifestările clinice ale bolii se datoresc efectului toxic al galactozo-1-fosfatului asupra metabolismului celular, ele apar la cîteva zile după alimentația cu lapte, sînt reversibile și dispar lent după excluderea lactozei din regim. Gravitatea leziunilor tisulare este proporțională cu cantitatea de lactoză ingerată și cu durata ingestiei. Afecțiunea se manifestă prin: apatie, dificultăți în alimentație, vărsături, scădere în greutate, apariția corpilor reductori în urină. Rapid se instalează icterul cu hepatosplenomegalie, evoluție spre steatoză, apoi ciroză cu ascită. Atingerea renală se traduce prin: albuminurie, cilindrurie, aminoacidurie, iar dacă acțiunea citotoxică se prelungește duce la leziuni ireversibile de cataractă și debilitate mintală.

Testul de toleranță la galactoză este riscant, căci produce hipoglicemie, uneori foarte accentuată, prin aglomerare de galactozo-1-fosfat, care inhibează probabil fosfoglucomutaza (după Sielburg) (20). Recent, Isselbacher a pus în

evidență o cale metabolică accesorie a galactozei prin intervenția uridilgalactozopirofosforilazei, enzimă inactivă la naștere și care se maturează la vîrsta adultă. Ea permite galactozo-1-fosfatului să scurtcircuiteze blocajul metabolic

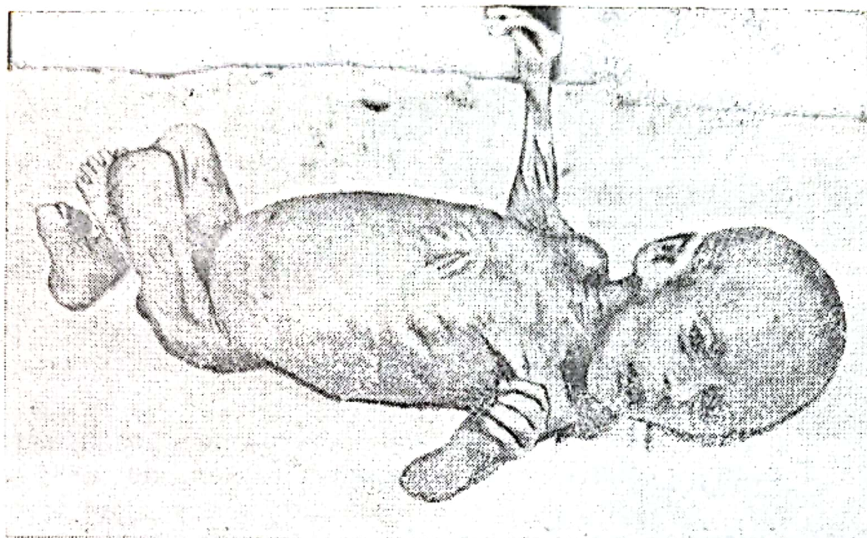


Fig. XV, 3. Atrepsie prin „intoleranță la lactoză" la un sugar de 3 luni.

primitiv și să pătrundă din nou în circuitul glucogenezei. Fenomenul ar putea explica varietatea tablourilor clinice și faptul că unele persoane ajung să tolereze galactoza la adolescență (8).

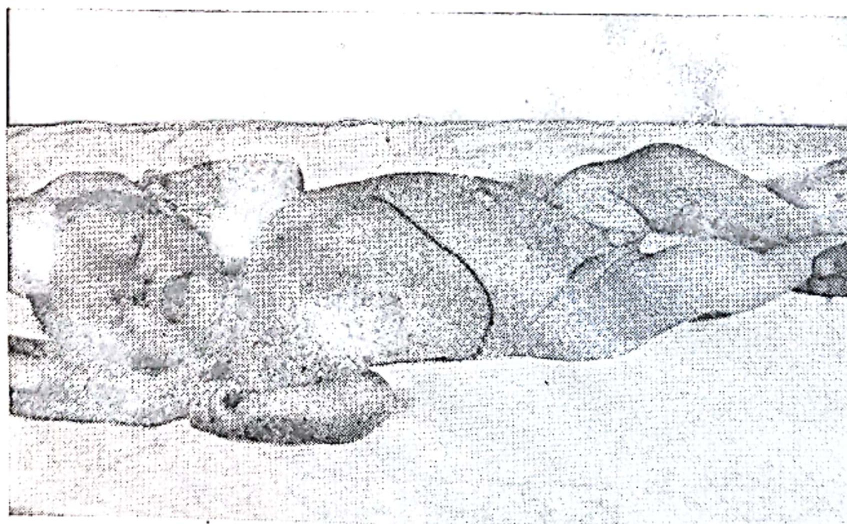


Fig. XV, 4. Hepatomegalie în cadrul galactozemiei congenitele la un sugar în vîrstă de 3 săptămîni

Un număr de două cazuri sînt urmărite de noi: primul, diagnosticat tîrziu, la vîrsta de 4 săptămîni, nu a mai putut fi salvat, sfîrșind după cîteva zile de la internare în mare insuficiență hepatică, al doilea diagnosticat în primele 10 zile de viață, astăzi în vîrstă de 3 luni, are o evoluție satisfăcătoare. Datorită

lipsei preparatelor industriale înlocuitoare de lapte, l-am hrănit cu un amestec de făină de orez, ou, glucoză și acizi aminați; am administrat de asemenea perfuzii de plasmă și acizi grași. Nu am reușit să obținem o stare de nutriție dintre cele mai bune, greutatea la 3 luni fiind de 4 200 g, în schimb, efectele toxice au fost îndepărtate. Icterul a cedat, nu au apărut cataracte, nici tulburări nervoase.

Tezaurismozele în care este afectat metabolismul glicogenului, glicogenozele, realizează entități individualizate clinic și biochimic, depinzînd se pare de gene diferite. Tulburările biologice sînt consecința blocării transformării glucozo-6-fosfatului în glucoză prin absența activității glucozo-6-fosfatazei și acumularea consecutivă a glicogenului în ficat, rinichi, inimă sau mușchi. S-au descris pînă în prezent 7 tipuri de îmbolnăvire după locul pe care îl ocupă blocada în lanțul metabolic și acumularea diferențiată în organe: boala Von Gierke, cu depunere de glicogen în ficat și rinichi; boala Pompe, cu depunere cardiacă și glicogenoza neuromusculară Gunther, fiecare cu simptomatologie particulară imprimată de insuficiența funcțională a organului respectiv. Tipul Forbes este forma cea mai benignă în care lipsește amilo-1, 6-glicozidaza, blocajul producîndu-se la legăturile 1—6, nu 1—4 ca la cele anterioare.

În această situație se permite fosforilarea ramurilor exterioare ale moleculei de glicogen, glicoliza, cît și gliconeogeneza. Mobilizîndu-se astfel o cantitate suficientă de glucoză, acești bolnavi pot deveni normali.

Există și cazuri de glicogenoză cu dublu defect enzimatic, după cum în aceeași familie pot apărea forme disociate.

Tratamentul nefiind în stare să corijeze anomalia biochimică, încearcă să mențină glicemia în limite fiziologice printr-un regim bogat în proteine (la

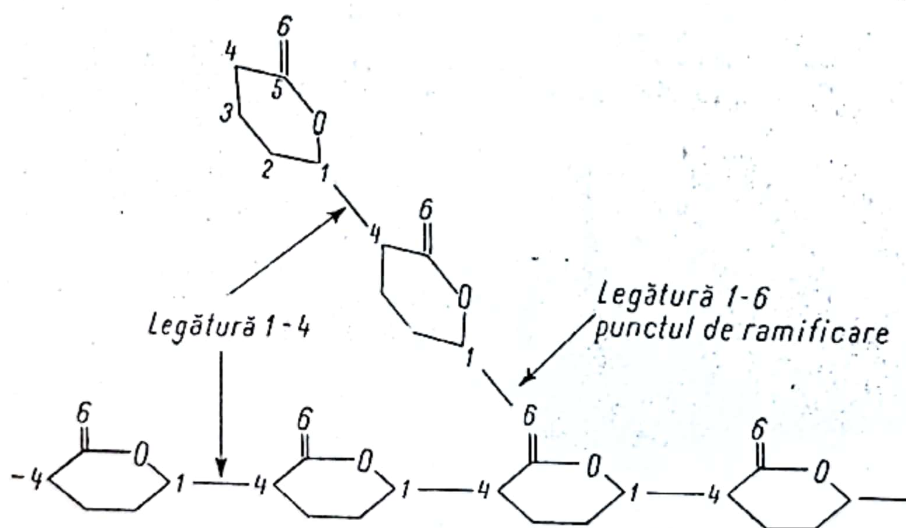


Fig. XV, 5. Formarea moleculei de glicogen din glicozide prin legăturile 1,4 și 1,6.

sugar se îmbogățesc proteinele în lapte pînă la 40%). Organismul utilizează glucozo-6-fosfatul provenit din proteine. De asemenea se vor administra cantități mici și repetate de lichide și bicarbonat de sodiu pentru combaterea hipoglicemiei și acidozei. Încercarea administrării de ACTH și corticosteroizi,

precum şi a glucagonului (recomandat de Gitzelmann, în 1957) pentru ameliorarea hipoglicemiei sînt rezultate certe.

Tezaurizarea anormală de lipide în sistemul reticuloendotelial şi histiocitar produce o serie de boli cu particularităţi deosebite chimic, anatomopatologic şi clinic. Tulburarea metabolică se produce la nivel intracelular, constînd din depunerea unei lipide particulare (sfingolipid) cu cele 3 varietăţi: cerebrozidele în boala Gaucher, sfingomielina în boala Niemann-Pick şi gangliozidele în idioţia amaurotică Tay-Sachs. Ultimile două, interesînd cu precădere sistemul nervos central, se caracterizează clinic, pe lîngă insuficienţele funcţionale generale cu hepatosplenomegalie, şi prin grade diferite de tulburări în dezvoltarea psihică. Evoluţia este progresivă; splenectomia impusă de inhibiţia medulară splenogenă nu vindecă afecţiunea. Bolnavul urmărit de noi cu boală Gaucher, splenectomizat la vîrsta de 6 ani, se prezintă după 5 luni de la splenectomie cu fenomene grave de insuficienţă cardiorenală.

Numărul afecţiunilor genetice produse prin sinteza defectuoasă a proteinelor plasmatice este în continuă creştere. După locul pe care îl ocupă tulburarea ereditară în cursul sintezei proteinelor, disproteinemia se traduce prin tulburări clinice diferite: absenţa oricărui potenţial imunitar în tulburarea congenitală a sintezei γ-globulinelor; tendinţa la hemoragii, în absenţa congenitală a unor fracţiuni globulinice cu rol în coagulare.

Din 1952, de cînd Burton descrie pentru prima oară un caz de agammaglobulinemie congenitală la un băiat de 8 ani, care de la vîrsta de 4 ani şi jumătate a prezentat 19 episoade infecţioase severe (mai adesea pneumonii cu 10 hemoculturi pozitive), cazurile descrise în literatura medicală s-au înmulţit, dînd posibilitatea să se contureze mai bine din punct de vedere nosografic (16).

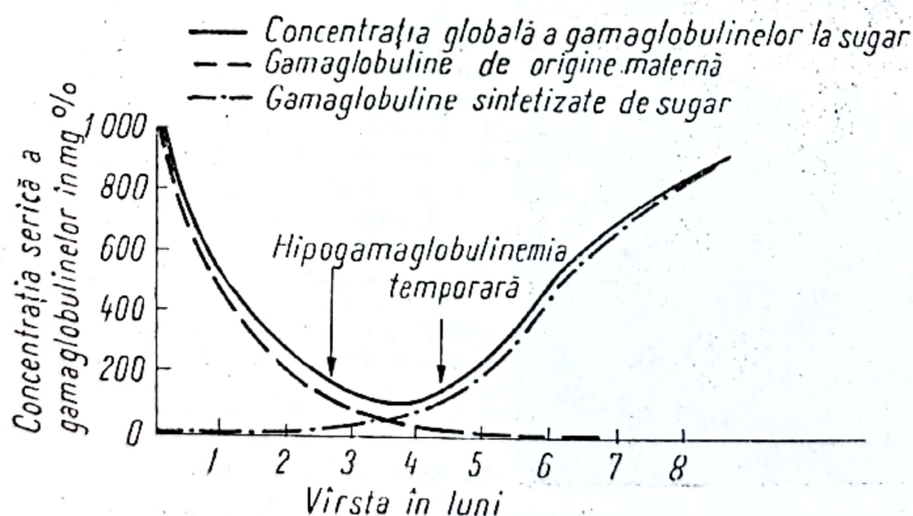


Fig. XV, 6. Hipogammaglobulinemia fiziologică a sugarului (Barrett, Volwiller).

Trăsătura esenţială a acestei anomalii este incapacitatea de formare a anticorpilor, mai cu seamă faţă de germeni piogeni. „Paralizia imunologică" nu se manifestă faţă de infecţiile cu germeni gramnegativi, ca şi faţă de infecţiile virale, datorită faptului că sistemul properdinic şi activitatea complementară

a serului sînt indemne. Defectul în sinteza γ-globulinelor este dat de absenţa plasmocitelor în ţesutul limfoid hipoplazic (5, 16, 18). Diagnosticul nu se face mai de grabă de 6 luni, pînă la această vîrstă agammaglobulinemicul avînd o cantitate de anticorpi primiţi transplacentar.

La naştere, nou-născutul tarat posedă în serul său o concentraţie de γ-globuline egală cu cea a adultului, în jur de 900 mg/100 ml care provine în întregime din transferul pasiv al γ-globulinelor materne în cursul ultimelor luni de graviditate. Acest stoc este complet epuizat la vîrsta de 6 luni, cînd concentraţia γ-globulinelor scade sub 100 mg/100 ml.

În afară de importanţa sa practică, agammaglobulinemia congenitală ridică probleme mai dificil de rezolvat din punct de vedere genetic. Clasic se întîlneşte carenţa paralelă a celor 3 imunglobuline (β_2 A, β_2 M şi γ-globuline). Mai recent s-a descris: normogammaglobulinemie cu lipsa β_2 M-globulinei şi cu paralizie imunologică. De aceea se pare că mai corectă ar fi denumirea de „sindromul lipsei congenitale de anticorpi“ propus de Laplane (12).

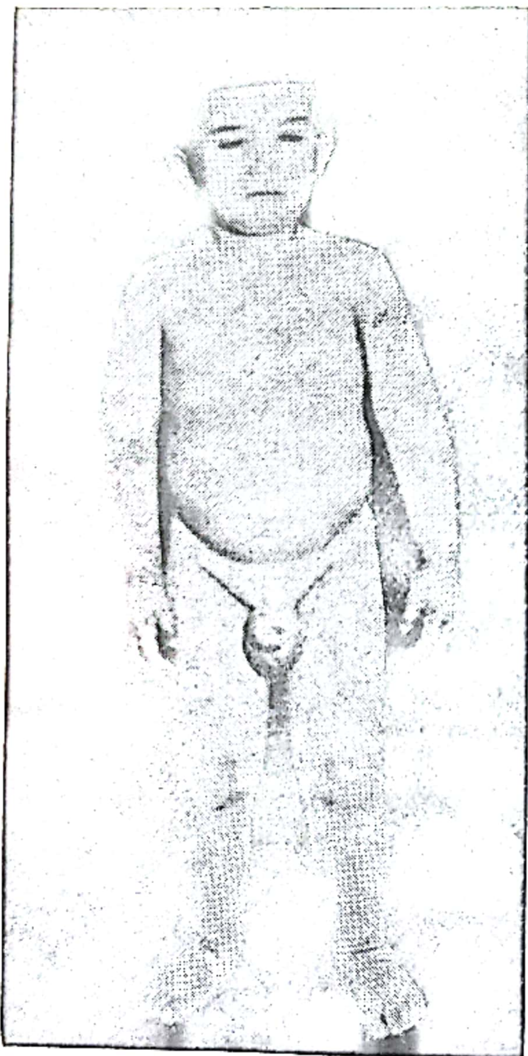


Fig.XV,7. Disproteinemie prin hipoalbuminemie şi agammaglobulinemie congenitală la un copil de 4 ani.

Cazul urmărit de noi vine să susţină această idee: copil în vîrstă de 4 ani, a cărei suferinţă a devenit clinic manifestă la 2 ani printr-o angină pultacee şi edeme. De atunci face repetate infecţii pulmonare şi otice febrile. Edemul are un aspect particular de sclerem, ajungînd uneori pînă la anasarcă. Cu intermitenţă apar scaune diareice. În evoluţie se instalează hepatomegalia, hipoacuzia şi tulburările de comportament cu lipsa oricărui potenţial imunitar.

Examinări de laborator: proteine totale între 4,5 pînă la 6,8 g%; V.S.H. 7—24 mm. În secreţia faringiană: streptococ hemolitic, dar titrul ASLO la repetate determinări este zero. Leucograma: polinucleare neutrofile 82%, limfocite 16%, monocite 2%. În medulogramă lipsesc plasmocitele. Electroforeza: albumine 47%; α_1 globuline 8%; α_2-globuline 32%; β-globuline 13%; γ-globuline 0%. Imunelectroforeza: lipsa totală a liniilor γ-globulinelor şi β_2M-globulinelor. Linia β_2A netă, cu uşoară specificitate faţă de normal. Hipohaptoglobulinemie prin lipsă de linii. Linia α_2-macroglobulinelor uşor intensificată. Tabloul umoral impune diagnosticul: disproteinemie prin hipoalbuminemie şi agammaglobulinemie.

Pentru caracterul ereditar al bolii pledează aspectul imunelectroforezei şi proteinogramei la părinţi. La mamă: hipoalbuminemie, hipoglobulinemie prin intensă hipogammaglobulinemie, β_2 M-globulinele avînd acelaşi aspect ca şi la copil; hipohaptoglobulinemie, haptoglobulina cu dublă curbură; hipoα_2-globulinemie prin lipsă de linii. La tată: hipoalbuminemie 32,7%, α_1-globuline 5,34%, α_2-globuline 11,7%, β_1 şi β_2-globuline 21,44%, γ-globuline 27,27%.

Defectul genetic în cazul nostru a avut o expresivitate clinică majoră, constituind un factor letal, copilul a sucombat după 4 luni, cu toate încercările de terapie substitutivă și patogenetică: γ-globuline, Omnadin, transfuzii de plasmă și de acizi aminați, transplant de măduvă și grefe de timus.

Cei doi părinți sînt purtători ai genei aberate fără expresivitate clinică, ci numai biologică: probabil este vorba despre un heterozigotism.

Încadrarea mucoviscidozei în grupul mare al anomaliilor înnăscute ale metabolismului proteic a suscitat controverse. Ca urmare a dereglării unui mecanism enzimatic intracelular, se produce o deficiență a tuturor celulelor producătoare de mucus. Creșterea vîscozității secrețiilor glandelor mucoase duce la obstruarea canalelor excretoare și la mărirea de volum a glandelor. Secundar apar modificări ale parenchimului nobil de organ (bronșiectazie, chisturi pancreatice, salivare, hepatice). Cercetările lui Di Sant'Agnese au dovedit că sudoarea și saliva bolnavilor prezintă o hiperelectrolitemie prin concentrație crescută de clor și sodiu. În lichidul duodenal și urina bolnavilor se pun în evidență mucoproteine anormale, mai bogate în fucoză și mai sărace în acid salic (3, 15, 24). O dovadă în plus în favoarea caracterului de eroare înnăscută de metabolism o constituie cercetările lui Spock (22), care a izolat în serul bolnavului, cît și la unii colaterali clinic indemni, un factor legat de globuline, capabil să provoace, în experiment la șoareci, o diskinezie a mișcărilor cililor epiteliului traheobronșic.

Natura ereditară a putut fi astfel dovedită, transmiterea genetică pare să fie autozomal-recesivă, iar heterozigoții explică formele clinice minore cu simptomatologie disociată (4, 16).

Pentru pediatri, coexistența tulburărilor digestive cu afecțiuni pulmonare repetate, fenomene care apar încă de la vîrsta de sugar, trebuie să aducă în discuție diagnosticul de mucoviscidoză.

Cazul nostru îmbracă o formă particulară, fiind diagnosticat la vîrsta de 11 luni cu ocazia unei intervenții chirurgicale pentru o tumoare ce ocupa hipocondrul și flancul stîng de mărimea unui cap de copil mic avînd punct de plecare capul pancreasului. Examenul histopatologic din fragmentul pancreatic pune în evidență o fibroză interstițială cu dilatare chistică a acinilor: aspect de mucoviscidoză. Examinările paraclinice efectuate postoperator: fermenții pancreatici în sînge 16 U.W., în scaun 80 U.W., testul de sudorație (Cl 90 mEq/l; Na 110 mEq/l), precum și clorul crescut (114 mEq/l) și sodiul crescut (134 mEq/l) în sudoarea mamei, pun în evidență modificările specifice fibrozei chistice de pancreas. Prezența în antecedente a 2 frați morți în primele luni de viață printr-un sindrom dispeptic sever vin să susțină diagnosticul. În plus, după 4 luni de evoluție favorabilă sub tratament dietetic și extracte pancreatice, copilul se reinternează pentru o afecțiune bronhopulmonară însoțită de manifestări digestive, fapte care dovedesc persistența bolii de bază.

Pentru importanța clinică deosebită merită a fi discutate tulburările metabolice ale acizilor aminați sulfurați. Cistinuria clasică se traduce prin eliminarea urinară masivă de cistină, lizină, arginină și ornitină, consecutiv defectului de retroresorbție tubulară. Manifestarea clinică majoră o constituie formarea de calculi, determinată de cristalizarea cisteinei în mediul neutru sau acid. Pe radiografia simplă, calculii sînt vizibili datorită conținutului în sulf. Dar diagnosticul se poate pune înainte de formarea calculilor, prin mirosul de hidrogen sulfurat al urinii care se descompune, prin evidențierea cristalelor de cistină în urină: hexagonale, clare, incolore, cu reacția Sullivan pozitivă (cu β-naf-

tochinonă dă o colorație roșie intensă). Cromatografic se pun în evidență cei 4 aminoacizi (16, 18).

Recent, autorii scandinavi (Rossemberg și Segal, în 1966) au dovedit că din punct de vedere genetic, cistinuria nu este unitară. Afară de forma complet recesivă și incomplet recesivă se descrie o cistinurie izolată mai benignă și o cistinlizinurie care se asociază mai adesea cu o enteropatie atrofică. După părerea autorilor, boala reprezintă o entitate nosologică, nu o asociere întîmplătoare. Deci, cistin-lizinuria trebuie privită ca o enzimopatie dublă, de retroresorbție tubulară și una de malabsorbție intestinală a acizilor aminați sulfurați. Ei propun denumirea de „intoleranță familială la proteine", analogă intoleranței la dizaharide, clinic manifestîndu-se cu diarei care succed prînzurile bogate în proteine.

Tratamentul prin restricția proteinelor alimentare pentru a diminua excreția de acizi aminați, la copil comportă inconveniente serioase cu repercusiuni asupra creșterii și dezvoltării. Se caută să se diminueze excreția fie prin modificarea pH-ului pentru a crește solubilizarea cistinei, fie prin augmentarea debitului renal pentru a nu permite atingerea pragului său de saturație. Cantitatea de lichide ingerate, care trebuie să asigure o diureză mai mare de 2 ml/minut; să fie uniformă în tot decursul celor 24 de ore (este incomodă pentru copil, căci perturbă somnul de noapte). De asemenea, alcalinizarea urinei trebuie să asigure un pH mai mare de 7,6, necesitînd pentru aceasta o cantitate pînă la 30 g zilnic de bicarbonat de sodiu (dificil de aplicat mai mult timp la copil). O terapie eficientă pentru dizolvarea calculelor și profilaxia recidivelor se face cu d-penicilamină, care solubilizează cisteina eliminînd-o sub formă de cisteinpenicilamindisulfit. Trebuie avut în vedere fenomenele secundare: fiind o metalcaptază există primejdia spolierii de fier și de aceea se asociază fierul în tratament. Avînd efect antipiridoxinic, este necesară administrarea zilnică a 50—100 mg vitamină B_6. Terapia eficientă impune în continuare controlul sistematic al fraților cistinuricului, căci s-a dovedit prin studii genetice că aceștia au șanse 1/4 de a fi atinși.

Cistinuria este mai frecventă decît se cunoaște. Bostrom, în Suedia, a găsit printre 800 de copii din clasa I examinați, 3 cazuri complete și 11 tablouri incomplete de cistinurie (1).

Că litiaza urinară nu este o boală locală ci un simptom în cadrul unei anomalii congenitale dismetabolice o dovedește în plus și oxaloza, eroare congenitală în metabolismul glicocolului. În lipsa enzimei care transformă glicoxilatul în acid formic se adună acid oxalic sub formă de oxalat de calciu în întregul organism, dar cu precădere la nivelul rinichiului și apare tabloul morbid al oxalozei cu colici caculoase recidivante. Și cum oxaloza nu este o boală foarte rară, diagnosticul se impune precoce, căci administrarea benzoatului de sodiu scade concentrația glicocolului în toate umorile organismului și consecutiv sinteza de acid oxalic. Astfel se face o profilaxie a formării de calculi.

De importanță practică pentru pediatru este cunoașterea faptului că la copil pot apărea convulsii în cadrul degradării vicioase a triptofanului. Pentru metabolizarea sa, piridoxina are un rol catalitic important. În lipsa vitaminei B_6 se elimină în urină un metabolit neobișnuit, acid xanturenic, găsit în

urina sugarilor care au prezentat convulsii. În interpretarea etiopatogenetică a sindromului convulsiv la sugari se impune deci să se ţină seamă şi de această posibilitate, pentru instituirea unei terapii corecte.

Nu pot încheia fără să nu amintesc anomaliile înnăscute în metabolismul acizilor aminaţi cu repercusiuni severe asupra dezvoltării psihice a copilului, afecţiuni care recunoscute din timp, încă în primele luni de viaţă, beneficiind de un regim dietetic lipsit de acidul aminat responsabil, pot preveni instalarea tulburărilor mintale.

În afară de cunoscuta boală Fölling — idioţia fenilpiruvică — s-a descris mai recent: homocistinuria, în care defectul enzimatic constă din lipsa cistantionsintetazei necesară pentru transformarea metioninei în cistină. Se acumulează homocistina a cărei eliminare urinară se pune în evidenţă prin reacţia cu cianid-nitroprusiat, dînd o coloraţie roşie. În afară de tulburările psihice care merg cu diferite grade de oligofrenie, ne atrage atenţia aspectul clinic: roşeaţa intensă a obrajilor, părul rar, mersul balansat, deformări osoase cu osteoporoză severă, modificări care cresc ca expresivitate cu vîrsta. Frecvent se întîlnesc complicaţii grave tromboembolice, prin defect vascular de lizare a cheagului şi probabil şi defect endogen în coagulare. Dacă homocistinuria se întîlneşte mai rar decît fenilcetonuria, este pentru faptul că subiecţii mor subit prin tromboembolii. Importanţa practică a recunoaşterii afecţiunii este deosebită, fiindcă o dietă săracă în metionină cu un adaos de cistină ameliorează afecţiunea.

Tratamentul corect al defectelor anzimatice impune deci să se ţină seama şi de eventualele efecte secundare determinate de lipsa cataboliţilor, care succed blocajul enzimatic. De aceea, în regimul alimentar, în afara limitării acelor produşi care iau naştere înaintea blocajului enzimatic se adaugă şi cei de după blocaj.

Erorile congenitale de metabolism au fost socotite foarte rare atîta timp cît nu au fost studiate. Incidenţa lor s-a dovedit a fi mai mare decît s-a crezut, dar se ascund în spatele unor sindroame de natură variată, cum ar fi: boala calculoasă, insuficienţa cronică digestivă, deficienţe psihice etc., fapt care le conferă o importanţă practică, deosebită, mai cu seamă în pediatrie.

Frecvenţa lor în general este dată între 1/3 000 pentru mucoviscidoză (9) şi 1/50 000 pentru galactozemie (Thalhammer) (5).

Dacă formele cu manifestări clinice majore sînt mai rar întîlnite datorită selecţiei naturale, apoi purtătorii aberaţiilor biochimice, clinic asimptomatici, sînt mult mai numeroşi, aşa cum a reieşit şi din cazurile noastre.

Cunoaşterea eredopatiilor metabolice se impune clinicianului nu atît pentru importanţa teoretică a problemei, cît pentru valoarea ei practică, rezultatele terapeutice fiind în parte încurajatoare. Dacă substituţiile genice directe de ADN ni se par în prezent de nerealizat, peste un număr de ani ar putea deveni realitate. În schimb, medicina de astăzi ne oferă posibilitatea de a transforma o deficienţă mintală aparent incurabilă într-o stare normală, cu condiţia să fi fost diagnosticată de la naştere. Regimul sărac în fenilalanină (Lofenelac, Ketonil, lapte 3 200 B Mead. Johnson) sau lipsit de lactoză (Vegelact B, Nutramigen) s-a dovedit a fi eficace în toate cazurile aplicate înaintea apariţiei primelor simptome clinice.

De aceea, în unele țări se procedează sistematic prin teste de rutină, (metoda Güthrie) la fiecare nou-născut, după 72 de ore, adică după hrănirea cu lapte pentru punerea în evidență din picătura de sînge sau din urină a tulburării enzimatice. Orice bănuială se controlează prin cromatografie în coloană, se tratează în spital, asigurîndu-i-se și preparatele dietetice corespunzătoare.

Genetica enzimelor deschide în plus o perspectivă pentru înțelegerea deosebirilor de sensibilitate față de îmbolnăviri, față de factorii stresanți și toleranța individuală diferită față de mijloacele terapeutice. Reacțiile de dezintoxicare, fie cea de acetilare, fie cea de glicuronidare sau cuplare cu glicina, acidul sulfuric sau prin oxidare stau toate sub control genetic (18).

O cunoaștere mai profundă a biochimiei normale și patologice ar substitui probabil, după Heusghem, noțiunea vagă de „teren" cu care medicii s-au familiarizat în fața evoluției neobișnuite a unei boli sau a răspunsului aberant al unei terapii, cu termenul mai corect, acela de „tulburări biochimice genetic determinate", responsabile de anomaliile observate (8).

BIBLIOGRAFIE

1. Bichel H. — Metabolisch-genetische Krampfleiden, *Mschr. Kinderheilk*, 1963, 110, 3, 112.
2. Bickel H. — Stoffwechsel und Stoffwechselkrankheiten, B 111/1963, H. 7, p. 271.
3. Di Sant'Agnese P. A. — Die Zystische Fibrose der Pancreas Mucoviscidosis, *Dtsch. med. Wschr.*, 1961, 29, p. 1 379.
4. Fanconi G. — Die angeborenen Anomalien des Kohlenhidratstoffwechsels, Monat. fur Kinderheilkunde, 1962, 110, 3, 138.
5. Fanconi G., Wallgren A. — Manual de pediatrie, ediția a 7-a, Ed. medicală, București, 1965.
6. Haggis G. H., Michie D. Muir A. R., Roberts K. B., Walker P. M. B. — Introducere în biologia moleculară, Ed. Științifică, București, 1968.
7. Harry Harris. — Unele aspecte generale ale variației enzimatice la om, Lucrările Congresului al III-lea internațional de genetică umană, Chicago, 1966.
8. Heughen C. — Quelques exemples intéressants de biochimie génétique pour le médecin praticien, *Rev. méd. Liège*, 1967, 22, 18, 516.
9. Houstek J. — Notre expérience à propos de la mucoviscidose, *Rev. méd. Liège*, 1967, 22, 15, 421.
10. Klein D. — Les progrès de la médecine et l'avenir génétique de l'homme, *Med. et. Hyg.*, 1967, 783, 629.
11. Lamy M. Roger P., Frezal J. — Maladies héréditaires du métabolisme chez l'enfant, Ed. Masson, Paris, 1959.
12. Laplane R., Burtin P. — Studiul biologic și genetic al unui caz de agamaglobulinemie atipică, *Sem. Hôp. Paris*, 1962, 25/5, 1 485.
13. Moraru I., Antohi St. — Introducere în genetica moleculară, Ed. medicală, București, 1966.
14. Mărgineanu Octavia, Schuster Tatiana, Mihalca Eugenia, Ionescu Doina — Aspecte variate ale erorilor înnăscute de metabolism la copil, *Pediatria Buc.*, 1966, 6, 535.
15. Megevand A. — La mucoviscidose, *Méd. et. Hyg.* 1968, 815, 247.
16. Nelson W. E. — Traité de Pédiatrie, Erreures congénitales du métabolisme, edit. M. Rappaport, ediția a 7 a, Ed. Maloine, Paris, 1961, p. 278—318.
17. Penrose L. S. — Introduction à la génétique humaine (colectiv), Ed. Armand Colin, 1962.
18. Schreier K. — Die angeborenen Anomalien des Eiweisstoffwechsels *Mschr. Kinderheilk.*, 1962, 10, 3, 129.

19. S c h u s t e r J. — Intolerance digéstive au sucre chez l'enfant, *Guide Prat.*, 1968, 92, 27.
20. S c h u s t e r J. — Privire sumară asupra enzimologiei, De la teorie la clinică, *Guide Prat.*, 1968, 95, 189.
21. S t e r n C. — Citeva aspecte generale ale geneticei umane, *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1967, 99, 5, 604.
22. R o s s i E., G u g l e r E. — Puncte moderne de vedere în patogenia mucoviscidozei. *Mschr. Kinderheilk.*, 116, 5, 170.
23. T u r p i n R. L e j e u n e J. — Les chromosomes humains, Ed. Gauthier-Villars, Paris, 1965.
24. V i v e l l O., I a c o b i H., M u n c h b a c h K. — Zür Mucoviscidosis im Kindersalter, *Mschr. Kinderheilk.*, 1963, 111, 2, 62.
25. Z o l l n e r N. — Die angeborenen Anomalien des Lipoidstoffwechsels, *Mschr. Kinderheilk.*, 1963, 110, 3, 148.

Cap. al XVI-lea

ASPECTE CITOGENETICE ÎN PATOLOGIA INFANTILĂ

Lidia Cucu-Cabadaief

Teoria cromozomială a eredităţii a dus la ipoteza că anomaliile cromozomiale pot antrena tulburări fenotipice importante, dar cunoaşterea universului cromozomial sub multiplele lui aspecte şi modificări a devenit posibilă doar în 1956 după ce J. A. Tjio şi A. Levan (50) au stabilit numărul cromozomilor umani la 46 (44 autozomi şi 2 gonozomi).

Această precizare va constitui fundamentarea unei patologii bănuite de mult ca fiind cromozomială de către Varrdenburg, Turpin şi Caratzali (cit. 54), care pretindeau că mongolismul ar fi expresia unei anomalii cromozomiale.

După aplicarea metodelor moderne de citogenetică, culturi de celule, examenul măduvei hematopoietice, autoradiografierea cromozomilor, s-au putut identifica, ca fiind datorite unui defect genetic, o serie de sindroame particulare, cu modificări fenotipice întîlnite la copii.

Descoperirea, în 1959 de către J. Lejeune, M. Gauthier, R. Turpin (53), a anomaliei cromozomiale din sindromul Down a deschis în patologia umană capitolul trisomiilor.

Majoritatea bolilor genetice erau explicate, pînă la apariţia citogeneticei printr-un schimb calitativ al mesajului ereditar. Citogenetica umană a introdus un concept nou în determinismul bolilor constituţionale, acela al unui defect cantitativ, adică, o omisiune sau o repetiţie a unor pasaje ale mesajului ereditar, informaţia conţinută în această situaţie fiind de cele mai multe ori calitativ normală. Astfel se ştie că trisomicii posedă tot mecanismul genetic fără nici o eroare în planurile de construcţie a cromozomilor, dar ei sufăr de un exces de informaţie genetică.

În legătură cu aberaţiile cromozomiale trebuie reţinute cîteva fapte importante. Excesul unui cromozom acţionează într-o manieră specifică asupra unor caractere funcţionale sau morfologice şi determină o anomalie caracteristică. Aberaţiile cu plus de material genetic sînt compatibile cu viaţa, mai ales cînd trisomia interesează perechile 13 pînă la 22. Trisomiile 1—12 par incompatibile cu viaţa. Cromozomii 1—12 fiind cei mai mari cromozomi umani, este posibil ca individul să nu poată tolera acumulări de material genetic, cantitativ prea mari.

Pierderile de material ereditar au o acțiune mai evidentă, dar cunoașterea lor este de dată recentă, fiind observate la om doar în 1963. Pînă la această dată, delețiile erau presupuse neviabile, pentru că pe de o parte ele erau considerate ca fiind o lipsă gravă pentru organism, pe de altă parte ca permițînd exprimarea tuturor genelor recesive, defavorabile, eventual purtate pe cromozomul restant.

S-a constatat că aberațiile autozomale cromozomiale nu sînt compatibile cu viața cînd numărul de cromozomi este mai mic decît cel normal. Monosomiile sînt letale, cu excepția mozaicurilor.

Cunoașterea din ce în ce mai completă a unor procese morfogenetice, începînd cu perioada prenatală, a dus la conturarea unei patologii legate atît de modificarea cromozomilor autozomi, cît și a cromozomilor sexuali.

Anomaliile autozomale se pot diferenția în:

a) Anomalii autozomale constituționale;

b) Anomalii autozomale cîștigate postnatal.

În general, bolile autozomale au la bază:

— anomalii autozomale numerice prin exces de material cromozomial sau lipsă de material cromozomial;

— anomalii structurale ale cromozomilor;

— anomalii autozomale complexe numerice și cu remanieri structurale (fig. XVI, 1).

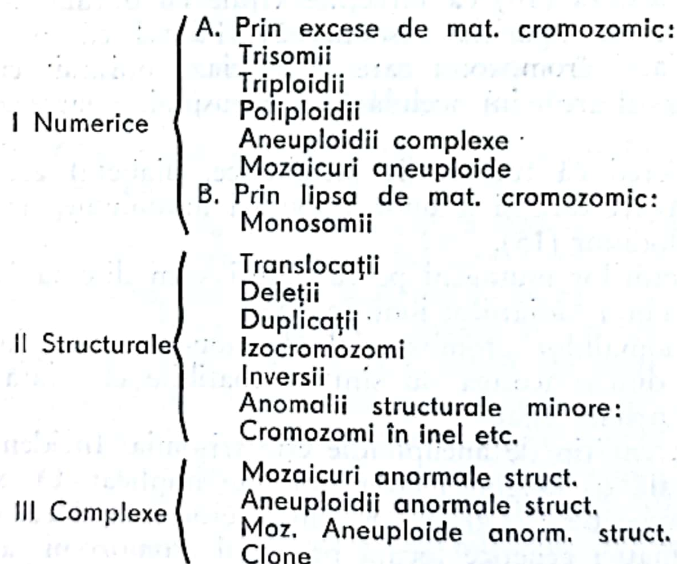


Fig. XVI, 1. Clasificarea anomaliilor cromozomiale autozomale.

În cele ce urmează ne vom ocupa numai de anomaliile autozomale constituționale. Anomaliile cromozomiale constituționale cînd antrenează un exces sau o lipsă de material ereditar, tulbură profund embriogeneza. Ele provoacă dismorfii și malformații legate de dezvoltarea aberantă și asincronă a diverselor sisteme viscerale, celulare și enzimatice subiecții afectați de aberații

autozomice dezechilibrate, fiind atinşi de arieraţie mintală, malformaţii viscerale, scheletice, dermatoglifice şi hipodezvoltare pondero-staturală.

În ceea ce priveşte *cauzele anomaliilor cromozomiale*, nu sînt încă date suficiente şi mai ales concludente.

Dacă toată lumea este de acord că unele aberaţii cromozomiale ca trisomiile rezidă din „nondisjuncţia" cromozomilor în timpul gametogenezei la unul dintre genitori, cauza însăşi a „nondisjuncţiei" rămîne încă necunoscută.

Se discută mult vîrsta înaintată a mamei, cu toate implicaţiile complexe ale procesului de îmbătrînire, care ar favoriza apariţia anomaliilor cromozomiale şi ale unor malformaţii congenitale. După vîrsta de 40 de ani, frecvenţa sindromului Down ar fi de 2—3% din naşteri, iar frecvenţa malformaţiilor de 17, 2% (53).

Unii autori (13) subliniază că pe parcursul vieţii intervin o serie de factori endocrini, ginecologici, obstetricali, care ar putea contribui la apariţia anomaliilor cromozomiale.

S-a arătat că pentru mamele tinere riscul de a avea un al doilea copil trisomic, este mai mare decît pentru cele în vîrstă (11), deoarece la femeia tînără, care a născut un copil cu anomalii cromozomiale, aberaţiile cromozomiale sînt mult mai grave şi se transmit mai frecvent. S-a semnalat ca important în apariţia trisomiilor instabilitatea numerică şi morfologică a cariotipului mamei, care fenotipic poate fi normală (8).

În apariţia anomaliilor cromozomiale se discută importanţa supramaturării ovulului în trompă sau în ovar sub influenţa unor factori care produc supramaturarea ca: barbituricele, virozele şi bolile prin autoanticorpi (10, 15, 16). Se menţionează (16) că infecţiile virale cu durată mare de incubaţie ar avea rol cauzal în apariţia trisomiei 21. Faptul că în trisomia 21 sînt implicaţi tocmai acei cromozomi care se asociază obişnuit cu nucleolul care joacă rol în dezvoltarea intracelulară a virusului, sugerează aceste relaţii cauzale.

Unii autori cred că tulburările metabolice, diabetul zaharat sau survenirea simultană a acestora şi a unor tulburări autoimune, ar putea avea rol în apariţia aneuplodiilor (15).

În cadrul factorilor mutageni pe care nu-i vom discuta *in extenso*, ţinem să amintim importanţa radiaţiilor ionizante (9).

Frecvenţa anomaliilor cromozomiale la nou-născutul viu se apropie de 1% (49). Multe dintre acestea nu sînt compatibile cu viaţa extrauterină şi mor spre sfîrşitul primului an.

Cel mai frecvent tip de aneuploidie este trisomia. Incidenţa trisomiei este invers proporţională cu lungimea cromozomului implicat. O excepţie de notat este absenţa trisomiei pentru grupul F, dintre cromozomii cei mai mici. Poate importanţa informaţiei genetice locată pe aceşti cromozomi să fie de o atare importanţă, încît moartea să se producă înainte ca sarcina să fie detectată.

TRISOMIILE AUTOZOMICE

Cele mai frecvente anomalii autozomice sînt trisomiile. O trisomie autozomică se caracterizează prin prezenţa unui cromozom autozomic în exces. Garnitura cromozomică conţine astfel 47 de cromozomi. Trisomiile autozomice

sînt denumite prin numărul perechii cu care elementul supranumerar poate fi împerechiat (după convenția de la Denver prin litera grupului, după C. Patau).

Dintre trisomiile cunoscute, doar trisomiile 13, 18 și 21 au un fenotip specific care ne permite diagnosticul prezumtiv clinic. Subiecții purtători ai aberațiilor cromozomiale nu oferă însă totdeauna o corespondență între cariotip și fenotip, ceea ce face imposibil diagnosticul doar pe criterii clinice.

În produsele de avort spontan, toate trisomiile autozomice au putut fi găsite (49). Majoritatea acestora, în afara celor menționate mai sus, sînt incompatibile cu viața extrauterină.

Trisomiile autozomice sînt rezultatul unui accident meiotic, în timpul formării gameților la unul din părinți, sau al unui accident mitotic, interesînd primele diviziuni ale zigotului. Acest ultim accident nu poate afecta decît subiectul atins și respectă alți membri ai fratriei. Modificările apărute intră în categoria fenocopiilor (mutații produse de mediu, care nu se transmit ereditar).

Cu totul excepțional, trisomia poate lua un caracter recurent și să afecteze mai mulți membri ai familiei. În acest caz, mecanismul normal al meiozei este perturbat de existența unei anomalii cromozomiale structurale, la unul dintre genitori, purtători heterozigoți ai unei translocații. Această remaniere cromozomică duce la constituirea unei structuri noi, în care un cromozom este atașat de altul de o manieră definitivă și transmisibilă din generație în generație. Cînd această translocație este „echilibrată", adică nu antrenează nici lipsă, nici exces de material ereditar, ea nu are traducere fenotipică și purtătorul este normal. Dar prezența translocației perturbă mecanismul meiotic și poate duce la formarea gameților dezechilibrați. Descendența unor asemenea subiecți este formată în proporție statistică egală de 4 varietăți de zigoți: normal, translocat, trisomic și monosomic. Această ultimă varietate fiind letală, șansa de apariție a unui subiect trisomic este în principiu de 1/3.

Trisomia 21 (sindromul Down) a fost izolată clinic de către Down în 1866 și precizată citogenetic de către J. Lejeune și colab. (53). Frecvența acestui sindrom se apreciază la un nou-născut la 600—700 de nașteri.

Modificări dismorfice: craniul copilului este mic, are formă sferică, ceafă plată, față rotundă, fante palpebrale strîmtate, oblice în sus și în afară. Prezintă epicant, iar hipoplazia piramidei nazale dă aspect de hipertelorism. Irisul are pe suprafață și în interior o coroană de mici noduli rotunjiți și albicioși, petele Bruschfield, care corespund condensărilor bine limitate ale fibrelor conjunctive ale stromei iriene. Pavilioanele urechilor sînt mici, uneori deformate, conductul auditiv putînd fi atrezic. Gura este mică, buze subțiri și crăpate, palat strîmt și ogival, limbă groasă fisurată, plicaturată și cu glosită exfoliatrice. Talia este mai mică decît mijlocie, datorită diminuării segmentului rizomelic. Mîna este scurtă și lată, degete scurte și groase, mai ales primul și al cincelea. Prezintă brahimezofalangie auriculară și clinodactilie. Nu arareori există și malformații viscerale.

De o mare importanță pentru perspectivele de cercetare ce se deschid, este faptul că în sindromul Down s-au constatat anomalii enzimatice la baza cărora stă încărcarea genică suplimentară. Astfel, s-a arătat că fosfataza alcalină a leucocitelor este crescută cu 50% față de normal (52). S-a găsit și

creşterea altor enzime, cum ar fi galactozo-1-fosfaturidiltransferaza, galactochinaza, fosfohexochinaza şi glucozo-6-fosfatdehidrogenaza (cit. 54). (S-au constatat de asemenea şi modificări metabolice; astfel, eliminarea urinară a diverşilor metaboliţi ai triptofanului este diminuată datorită unei accelerări a căii metabolice trecînd prin hidroxikinurenină (54).

Dezvoltarea psihomotorie a acestor copii este întîrziată. Se constată o arieraţie mintală care merge de la debilitate profundă pînă la cîştigarea unor automatisme. Există totdeauna o hipotonie musculară cu hiperlaxitate ligamentară.

Uneori există modificări dermatoglifice foarte apropiate de cele întîlnite la simienii inferiori: un singur pliu palmar de flexiune, frecvenţa pe eminenţa hipotenară a unei bucle cu deschidere cubitală, deplasarea distală a triradiusului axial, care poate atinge regiunea mediopalmară.

Cariotipul. În marea majoritate a cazurilor, trisomia este prezentă în toate celulele organismului accesibile examenului citologic. Se constată 47 cromozomi, datorită cromozomului 21 excedentar şi liber. Într-un mic număr de cazuri, cariotipul conţine 46 cromozomi, dar cu o trisomie 21 datorită unei translocaţii. Translocaţia antrenează formarea unui neocromozom 21/13 sau 21/21. Copilul purtător al unei translocaţii primeşte de la unul dintre părinţi un cromozom anormal. Acest părinte este o persoană fenotipic normală, dar cu 45 de cromozomi. Are 2 cromozomi 13 şi 2 cromozomi 21, dar unul din cei 2 cromozomi 2 este fixat pe unul 13, iar celălalt este liber. În timpul meiozei se pot petrece 4 posibilităţi, dacă mama este purtătoare de translocaţie: un ovul va fi 13/21-21, un altul 13-21, un al treilea 13-0, iar al patrulea 13/21-0. Un spermatozoid normal 13—21 va fecunda la întîmplare unul din aceste ovule. Rezultatul va fi conform figurii XVI, 2.

Ovul	13–21	13–0	13/21–21	13/21–0
Spermatozoid	13–21	13–21	13–21	13–21
Produs de fecundaţie	13.13–21.21	13.13–21.0	13/21–13.21.21	13/21.13–21.0
Prognostic	Normal	Avort	Mongolian purtător de translocaţie	Normal purtător de translocaţie

Fig. XVI, 2. După Koulischer (29).

Dacă cifrăm rezultatele de mai sus o mamă normală care are o translocaţie de tip 13-15/21 are o şansă din 4 de a avea un copil normal, o şansă din 4 de a avea un copil purtător de translocaţie, o şansă din 4 de a avea un mongolian cu 46 de cromozomi şi o şansă din 4 de a face un avort.

Previziunile teoretice nu se aplică decît la un mare număr de familii purtătoare a unei translocaţii şi este imposibil să se prevadă dacă primul, al doilea sau al treilea va fi un sindrom Down. Există totuşi o excepţie, translocaţia

21/21. Celulele germinale ale părintelui purtător vor fi de două tipuri 21/21 şi 0-0. Fecundat de un părinte normal, ele vor da fie un zigot mongolian 21/21/21, fie un avort datorită unei monosomii 21. În acest caz, toate naşterile vii vor da copii cu sindrom Down. Importanţa citogeneticei este deosebită pentru decelarea acestor cazuri.

În afară de cazurile tipice de trisomie 21, s-au descris şi trisomii incomplete prin mozaicism (18, 40), a unui mozaic normal/trisomie 21. O atare situaţie am observat şi noi la un copil de 3 ani şi 10 luni (bolnavul F. A., F.O. nr. 1 824/1967), care a prezentat o retardare psihomotorie şi modificări fenotipice care aminteau sindromul Down (fig. XVI, 3).

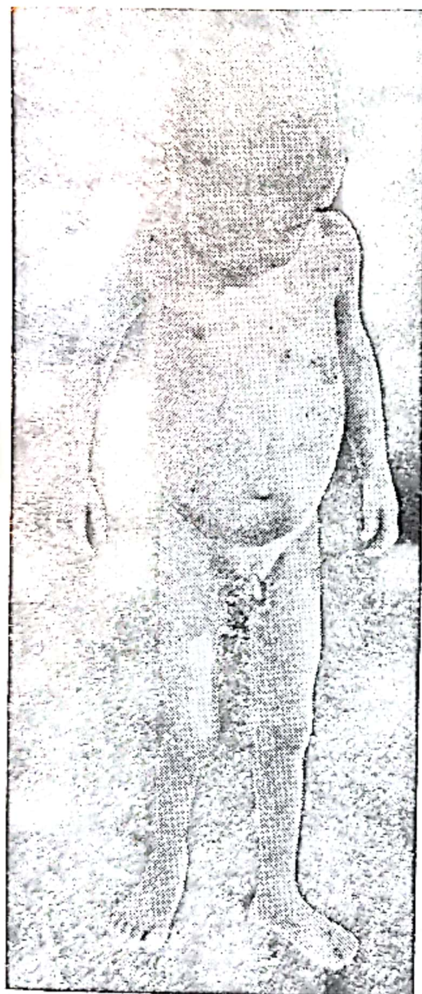


Fig. XVI, 3. Aspectul copilului F.A. (Obs. 1824/1967).

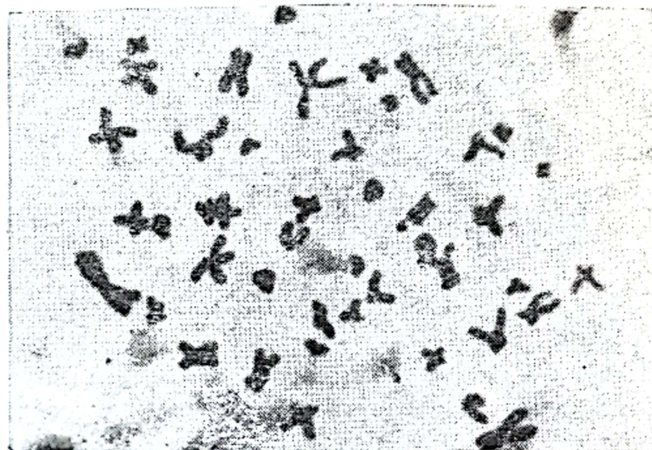


Fig. XVI, 4. Mitoze cu 47 de cromozomi (Metodă directă din măduva hematopoietică).

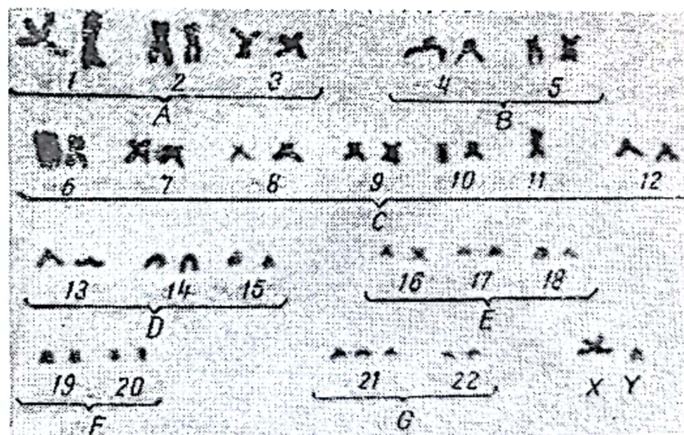


Fig. XVI, 5. Cariotipul celulei cu 47 de cromozomi, trisomia cromozomului 21.

Cariotipul efectuat direct din măduva sternală ne-a arătat la 10% din celule o trisomie 21, restul celulelor prezentînd un număr normal de cromozomi. Am considerat că este vorba de o trisomie incompletă prin mozaicism: mozaic normal/trisomie 21 (fig. XVI, 4 şi fig. XVI, 5).

Trisomia 13 (sindrom Patau) (43) are o frecvență de 1 la 5 000 de nașteri vii. Este de 7—20 de ori mai rară decît trisomia 21 (33).

Modificări dismorfice: trisomia 13 este sugerată de coexistența gurii de lup, a buzei de iepure, cu microoftalmie și cardiopatie malformativă. În

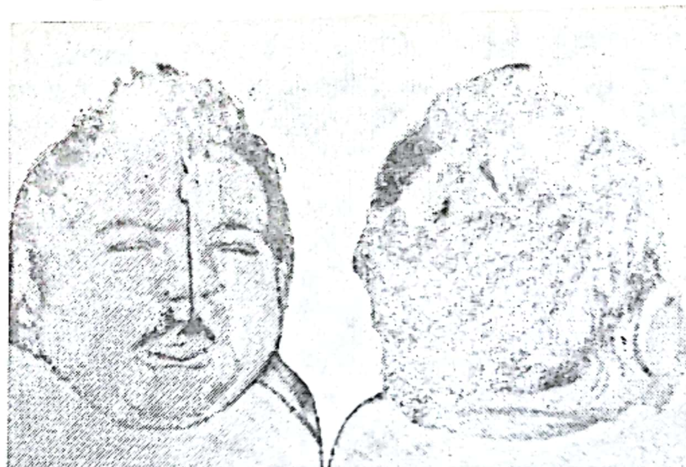


Fig. XVI, 6. Trisomie 13—15. Buză de iepure, nas turtit, urechi malformate și o arie cicatriceală pe creștetul capului [*după M. Warburg* (57)].

ansamblu, copilul este microcefal, regiunile frontale și temporale hipoplazice, cu ulcerații ale pielii capului în vertex, care se pot asocia cu lacune craniene subiacente. Anomaliile oftalmologice sînt foarte frecvente, constînd din microoftalmie, colobom irian, cataractă congenitală. Sub nasul lat și turtit, există uneori două buze de iepure (fig. XVI, 6).

Alteori, o aplazie a oaselor proprii ale masivului facial fără buză de iepure dă aspectul de cap de maimuță (cebocefalie). Urechile de obicei sînt malformate și implantate mai jos; există hexadactilie, picioare anormale, malformate *„pied en piolet"*. Se constată malformații viscerale, cardiace, urinare, genitale și ale aparatului digestiv, iar uneori malformații cerebrale (arhinencefalie).

Modificările dermatoglifice constau din: pliu palmar tranvers, augmentarea frecvenței arcurilor și buclelor radiale pe pulpa digitală, anomalii de poziție a liniilor principale, frecvența mare a figurilor tenariene și interdigitale.

Boala este extrem de gravă, dezvoltarea psihomotorie este nulă, copilul este hipoton, fără reflexe arhaice, cu crize convulsive, cu accese de apnee. Vîrsta în general nu depășește 2 luni.

Cariotipul. În 87% din cazuri arată o trisomie 13 (fig. XVI, 7).

Se cunosc și cazuri de trisomii prin translocație sau fuziune centromerică de tip D/D, între acrocentricii mari, sau trisomii incomplete cu mozaicism.

Trisomia 18 (sindrom Edwards) (14). Este o entitate clinică bine definită al cărei diagnostic se dovedește relativ ușor. Frecvența este de 1/3 500. Media de supraviețuire este de 4—5 luni. Dezvoltarea neuropsihică și somatică este aproape nulă. Se pare că este mai frecventă la fetițe.

Modificări dismorfice: craniul este mic, cu proeminența occipitalului, urechi malformate și jos implantate, hipoplazie mandibulară, micro- și retrog-

nație, uneori complicată cu glosoptoză, dînd aspectul de sindrom Pierre Robin. Gîtul este scurt, sternul foarte scurt, ceea ce dă toracelui un aspect mic în raport cu abdomenul. Bazinul este îngust. Extremitățile au anomalii tipice: degetele în flexiune marcată, indexul acoperind mediusul și auricularul inelarul. Sindactilia poate fi prezentă. Articulațiile au mișcări limitate. În unele cazuri se pot găsi artrogripoze multiple.

Copiii aceștia sînt hipotrofici, prezintă o creștere foarte lentă, o retardare motorie și a maturării osoase, tulburări neuropsihice marcate; lipsesc reflexele de sugere și de deglutiție. Se constată de asemenea malformații viscerale, cardiace, renoureterale. Dermatoglifele pun în evidență degete purtătoare de arcuri și înlocuirea a două pliuri palmare orizontale printr-un pliu transvers unic, asemănător celui din trisomia 21.

Cariotipul. Majoritatea trisomiilor 18 sînt libere. Sînt rare cazuri de trisomie 18 prin malsegregarea unei translocații parentale. Există și forme parțiale și forme în mozaic.

Trisomia 22 pare să fie o anomalie rară; de obicei acești copii sînt polimalformați și decedează rapid (30).

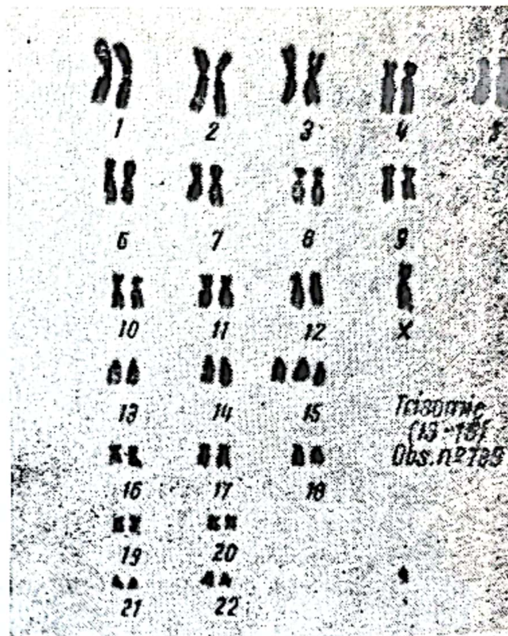


Fig. XVI. 7. Trisomie 13—15 [*după Saraux și colab.* (46)].

DELEȚIILE

Se desemnează în mod obișnuit sub termenul de deleție pierderea unui segment cromozomial. Delețiile autozomice pot fi recunoscute prin observarea unui element anormal al cărui braț este mai mic decît omologul său. Două deleții terminale pe un același cromozom pot duce la realipirea celor două părți proximale și la formarea unui cromozom în inel. Delețiile pot fi produse experimental prin numeroși agenți, mai ales prin radiații ionizante. Este greu în patologia umană constituțională de a găsi un factor precis la originea remanierilor cromozomiale.

În patologia umană s-au descris următoarele deleții compatibile cu supraviețuirea:

— deleția brațului scurt al cromozomului 5 (5 p-); provoacă boala „*Cri du chat*";

— deleția brațului scurt al cromozomului 4 (4 p-);

— deleția brațului lung al cromozomului 18 (18 q-);

— deleția brațului scurt al cromozomului 18 (18 p-).

S-a descris (23) sub semn de întrebare și un caz de deleție a brațului scurt al cromozomului 6 (6 p-).

Prin autohistoradiografie s-a putut constata că cea mai mare parte a delețiilor cunoscute corespunde zonelor unde sinteza ADN este tardivă, ceea ce

ar implica o relativă inactivitate genică. Delețiile fragmentelor active ar fi neviabile.

Boala „Cri du chat" (deleția brațului scurt al cromozomului 5), descrisă în 1963 de J. Lejeune și colab. (35), pare să fie cea mai frecventă dintre bolile legate de o deleție autozomică. Frecvența a fost apreciată de 0,2 la 10 000 de nașteri vii (2). S-a constatat că sexul feminin este mai frecvent atins. Media de supraviețuire este de 20—22 de luni, dar s-au comunicat și cazuri cu supraviețuire mai lungă.

Modificările dismorfice constau din hipertelorism cu epicant, adesea strabism, bosă metopică, implantare mai joasă a urechilor, față rotunjită, mandibulă mică cu hipoplazia gonionului, fante palpebrale oblice în jos și în afară, microcefalie notabilă (fig. XVI, 8).

Retardarea psihomotorie este marcată, copilul prezintă un strigăt de tonalitate plîngătoare și de timbru acut, evocînd un plîns de pisică tînără. Anomaliile responsabile de acest strigăt constau din laringe mic, pliuri aritenoepiglotice moi, cu epiglotă mică care basculează la fiecare mișcare inspiratorie. Se constată malformații cardiace la 1/4 din cazuri.

Dermatoglifele sînt anormale, se constată un pliu palmar transvers, în alte cazuri pliul de flexiune distal este rectiliniu și se oprește la baza celui



Fig. XVI, 8. Aspectul copilului cu deleție parțială a brațului scurt al cromozomului 5 [*după Lejeune și colab.* (35)].

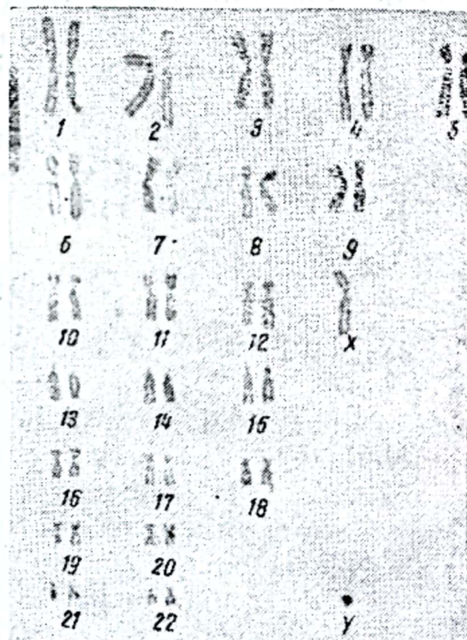


Fig. XVI, 9. Cariotipul deleției parțiale a brațului scurt al cromozomului 5 [*după Lejeune și colab.* (35)].

de-al treilea deget, în timp ce la subiectul normal merge pînă la spațiul al II-lea interdigital.

Cariotipul arată un cromozom 5 care a pierdut o parte variabilă a brațului său scurt (fig. XVI, 9).

În familie, riscul de a avea un copil atins de boală este de 1/4, iar în 1/4 din cazuri se va naște un copil trisomic pentru porțiunea 5 pierdută.

Această eventualitate realizează contratipul bolii şi se asociază cu o debilitate mintală gravă.

Deleţia braţului scurt al cromozomului 4 se caracterizează prin hipertelorism, defect de sudare mediană a formaţiunilor embrionare ale feţei, fantă palatină, buză de iepure, asimetria figurii şi a craniului, colobom irian, aso-



Fig. XVI, 10. Aspectul copilului cu sindrom Hallermann-Streiff-François [*după Walbaum şi colab.* (56)].



Fig. XVI, 11. Aspectul copilului cu deleţie parţială a braţului lung al cromozomului 18 [*după Lejeune şi colab.* (38)].

ciate cu malformaţii cardiace, genitale şi nervoase. Recent, în discefalia cu aspect de cap de pasăre, cu microoftalmie şi cataractă congenitală, cunoscută sub denumirea de sindrom Hallermann-Streiff-François, P. Jalbert şi colab. (26) găsesc o deleţie a braţului scurt al cromozomului 4 (fig. XVI, 10).

Cariotipul arată deleţia braţului scurt al cromozomului 4, care a putut fi pusă în evidenţă prin metode autoradiografice cu timidină tritiată.

Deleţia braţului lung al cromozomului 18. Copiii prezintă microcefalie, retracţia etajului mijlociu al feţei contrastînd cu o bărbie normală. Mai prezintă hipertelorism, cu sau fără epicant, hipoplazia părţii interne a marginii orbitei superioare, o gură cu buză superioară arcuită (fig. XVI, 11).

Se constată întîrziere mintală cu hipotonie musculară şi hipotrofie somatică. Malformaţiile organelor genitale şi ale aparatului digestiv se pot coasocia.

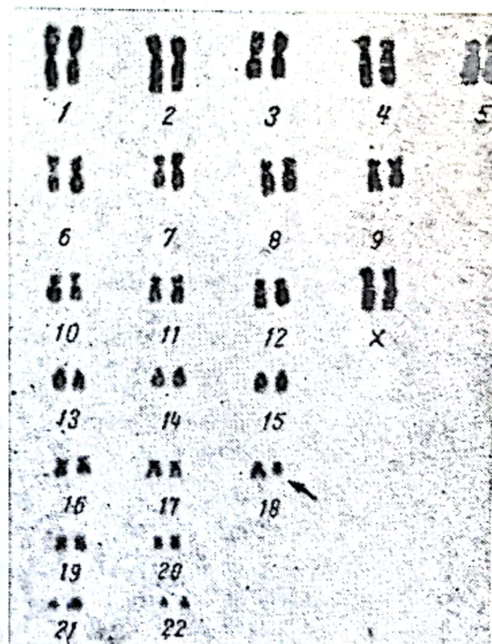


Fig. XVI, 12. Cariotip cu deleţie parţială a braţului lung al cromozomului 18 [*după Lejeune şi colab.* (38)].

Cariotipul arată pierderea jumătății din brațul lung al cromozomului 18 (fig. XVI, 12).

Deleția brațului scurt al cromozomului 18. Subiecții atinși de această boală prezintă o retardare neuropsihică notabilă, retardare staturo-ponderală, anomalii oculare (epicant, cataractă, ptoză palpebrală), gură cu colțurile lăsate în jos.

Un moment demn de amintit, care a contribuit la o mai bună cunoaștere a complexității bolilor cromozomiale, este anul 1965, cînd J. Lejeune (36) vorbește pentru prima dată de: *maladie du „Cri du chat" et sa réciproque,* subliniind că în patologia cromozomială se poate sistematiza un tip și un contratip al bolilor cromozomiale. Aceste două sindroame reciproce, de deleție pe de o parte, și de triplicare pe de altă parte, au permis să se imagineze faptul că delețiile realizează anomalii care sînt contratipurile trisomiilor. În analiza pe care autorul o face, arată că trisomiei 21 îi corespunde monosomia parțială 21, trisomiei 18 ca tip îi corespunde ca contra tip deleția parțială a brațului lung al cromozomului 18 (fig. XVI, 13).

TIP ȘI CONTRATIP (LEJEUNE)

Trisomie 21	*Copil Haplo 21*
Hipotone	Hipertonie
Aplazia nasului	Proeminența nasului
Epicant	Hipocant extern
Pete Bruschfield	Permanenta membr. pupil.
Hiper-gama globulin	Hipo-gama globulinemie
Hipoeozinofilie	Hipereozinofilie
Raport $\frac{\text{5 HIAA}}{\text{kinurenina}}$ dimin.	Crescut
Fosfatoza alcalină Crescută	Scăzută
Trisomie 18	*Deleție 18*
Nas fin bine dezvoltat	Retracția reg. nazale
Microretrognatie	Menton proeminent
Fosetă scafoidă lărgită	Fosetă scafoidă profundă
Ureche de faun	
Helix abia tivit	Helix foarte tivit
Bazin ingust	Hiperabducția coapselor
Degete scurte al II-lea și al V-lea călărind pe al III-lea și al IV-lea	Degete fuzelate
Frecv. crescută a arcurilor	Frecv. crescută a virtejurilor

Fig. XVI, 13. După Lejeune (39).

Comparația între tip și contratip este de dublu interes; opoziția semnelor clinice ne permite să determinăm în care sens un exces sau un defect al unui cromozom dat face să varieze fenotipul și în al doilea rînd, deschide calea de cercetare în genetică.

Este de remarcat că această utilizare a noțiunii de tip și contratip nu se limitează numai la accidentele constituționale, ci are un sens mai larg. Astfel,

de exemplu, deleția parțială a cromozomului 21 realizează un fenotip celular nou, acela al leucemiei meiloide cronice. Această boală este contratipul afecțiunilor maligne de care sufăr trisomicii 21. Se știe că trisomicii 21 fac de 20 de ori mai frecvent leucemii decît copiii normali (48), dar ei sînt atinși de leucoze limfoide acute, niciodată de leucemie mieloidă cronică. Se poate constata deci că acest tip de analiză deschide o perspectivă nouă asupra mecanismului chiar al oncogenezei; de asemenea deschide drum cercetărilor asupra tulburărilor metabolice legate de aceste procese.

Cunoașterea tulburărilor metabolice va duce la posibilitatea încetinirii printr-un metabolit a reacțiilor enzimatice sau chiar la remedierea metabolismului deficient. Așa cum afirmă J. Lejeune, lucrul acesta rămîne deocamdată doar o pură speculație, dar este singura speranță de a putea modifica într-o zi destinul acestor copii pe care o eroare a mecanicii cromozomiale îi condamnă.

După cum a reieșit din clasificarea prezentată sînt posibile și alte tipuri de anomalii cromozomiale (de exemplu, apariția cromozomilor în inel). Este

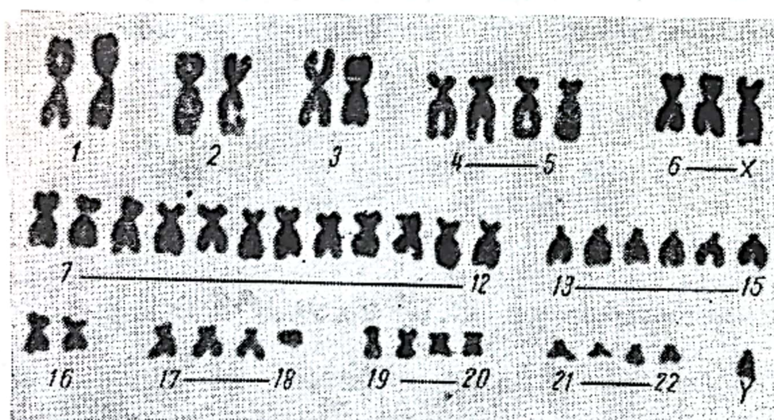


Fig. XVI, 14. Cariotip cu cromozom 18 în inel (cazul I) [*după Feingold și colab.* (17)].

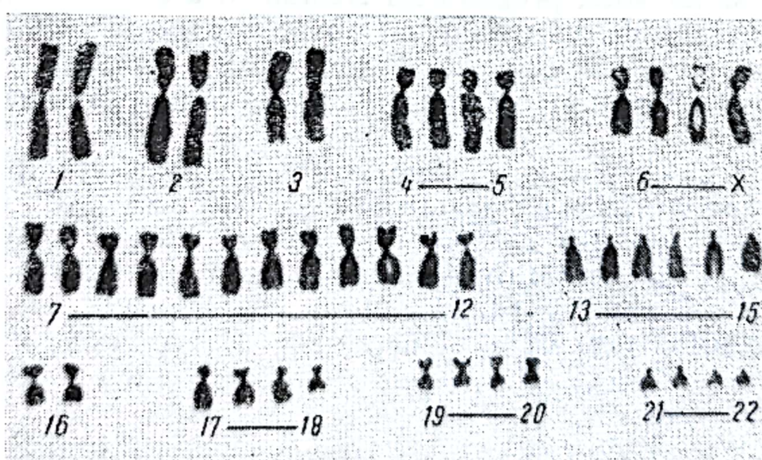


Fig. XVI, 15. Cariotip cu deleția brațului lung al cromozomului 18 (cazul al II-lea) [*după Feingold și colab.* (17)].

de menţionat că semiologia fiecărei grupe de cromozom în inel se suprapune cu cea a cazurilor de deleţie a aceluiaşi cromozom.

Este de subliniat că P. S. Gerald şi colab. (19), în legătură cu un cromozom D în inel, asociat cu o ahaptoglobinemie, emite ipoteza că locusul genei structurale a haptoglobinei, ar fi situat pe braţul lung sau braţul scurt al cromozomului D. Bloom (5) prezintă de asemenea date evidente în legătură cu locusul de control al formării lanţului alfa al haptoglobinei, localizat pe cromozomul 13. Pe aceeaşi linie importantă de cercetare, care tinde să precizeze locusurile de autozomi, a unor trăsături genetice, se înscriu şi observaţiile lui Feingold şi colab. (17), care în legătură cu 2 cazuri, unul cu cromozom 18 în inel, celălalt cu o deleţie parţială a braţului lung al aceluiaşi cromozom, găseşte o disgamaglobulinemie, o deficienţă a serumglobulinelor IgA. (Fig. nr. XVI 14, XVI 15).

*

Deşi în ultimii ani, genetica s-a dezvoltat într-un ritm rapid, profilaxia bolilor cromozomiale este limitată ca eficacitate, constituind un domeniu în care rămîn multe de realizat prin studii clinice, epidemiologice şi citogenetice.

O problemă delicată este stabilirea prognosticului genetic şi acordarea sfatului genetic părinţilor unor copii afectaţi de atare boli. După Klein (28), la acordarea sfatului genetic trebuie să se ţină cont că riscul pentru mamele care au avut un copil trisomic, de a avea din nou un copil atins, trebuie evaluat la 1% între 40—44 de ani şi la 2—3% după vîrsta de 45 de ani. La mamele tinere riscul este mult mai mare. De aici se impune necesitatea determinării cariotipului acestora pentru a decela modificările cromozomiale existente. În prezenţa unei translocaţii în general de tip 13/21 la mamă, probabilitatea unei atingeri la un alt copil este de 25—33%. Dacă tatăl e purtător de translocaţie, riscul este numai de 5%. La translocaţia 21/21, toţi copiii vor fi trisomici. În caz că un părinte are un mozaicism de tip trisomic, riscul de a avea un nou copil trisomic nu poate fi calculat pentru moment, dar trebuie să fie considerat cam 5—10%. Cu toate aceste calcule ale probabilităţii bazate pe investigaţii genetice şi statistice, prognosticul ereditar al acestor boli rămîne o problemă delicată. Geneticianul trebuie să aibă o experienţă personală care să-i permită să interpreteze corect datele din literatură şi totodată să ţină cont că nu totdeauna legile statistice pot fi aplicate rigid, la o populaţie aşa de mică, cum este familia.

Considerăm de o mare importanţă pentru profilaxia aberaţiilor cromozomiale, observaţiile lui Turpin şi Caratzali (54), care au arătat, că unele caractere fenotipice ale trisomiei 21 (limbă plicaturată, glosită exfoliatrice marginată, epicant, pliu palmar transvers, heterotopia arterei radiale), pot fi găsite la ascendenţii şi colateralii trisomicilor 21, aparent normali.

În consecinţă credem că ar fi important să se caute şi aceste semne în cadrul consultaţiilor prenupţiale şi să se efectueze cariotipul subiecţilor purtători ai unor atare stigmate.

Nu ne vom mai referi la o gamă întreagă de factori de mediu (radiaţii ionizante, substanţe chimice, medicamentoase), care putînd produce modificări cromozomiale, trebuie înlăturaţi (9, 10, 15, 16, 42).

Departe de a fi putut atinge complexitatea aspectelor legate de patologia anomaliilor cromozomiale, credem că este evident că citogenetica nu şi-a spus ultimul cuvînt în patologia infantilă. Să nu ne referim decît la faptul că în unele sindroame cu modificări cromozomiale (cum ar fi sindromul Bloom, anemia Fanconi, sindromul Down), se observă o mare incidenţă neoplazică (48). Se pune problema în ce măsură fragilizarea materialului nuclear poate să intervină favorizînd acţiunea agenţilor oncogeni. De altfel Toddaro şi colab. (51) au arătat afinitatea electivă a virusului oncogen SV 40 pentru fibroblaştii proveniţi de la bolnavii atinşi de anemie Fanconi.

Sîntem convinşi că prin folosirea şi perfecţionarea metodelor de citogenetică, pe lîngă precizarea originii sindroamelor dismorfe se va putea ajunge la explicaţia măcar a unei verigi din lanţul complicat al oncogenezei. Deocamdată, citogenetica aplicată la perioada copilăriei sugerează relaţii patogenice comune între anomaliile cromozomiale congenitale şi cele dobîndite şi lasă pe viitor poarta deschisă lămuririi conexiunilor acestor anomalii cu procesele de oncogeneză.

BIBLIOGRAFIE

1. Berger R. — *Sem. Hôp. Paris*, 1966, 26, 19, 1 204.
2. Berger R. — *Gaz., méd. Fr.*, 1968, 75, 5, 949.
3. Bernard R., Stahl A., Giraud F., Hartung M., Brusqu et J. — *Sem. Hôp. Paris.*, 1966, 36/37—8.9, 525.
4. Bloom D. — *J. Pédiat.*, 1966, 68, 103.
5. Bloom. G. E., Gerald P. S., Reisman L. E — *Science*, 1967, 156, 1 746.
6. Book J. A., Santesson B. — *Lancet*, 1960, 1, 858.
7. Bugarin O. — *Pediatria (Buc.)*, 1967, 1, 39.
8. Caratzali A., Nachtigal S., Cîrnu L. — *Cercet. Genet.*, 1965. 663.
9. Caratzali A., Ştefănescu D. T., Popescu H. I. — *Presse méd.*, 1967, 75, 32, 1 637.
10. Caratzali A., Roman C. I. — *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1969, 268, Seria D 191.
11. Carter C. O., Evans K. A. — *Lancet*, 1961, 2, 7206, 785.
12. Constantinescu C., Diculescu G. — *Pediatria (Buc.)*, 1966, 6, 497.
13. Copen A., Cowie V. — *Brit. méd. J.*, 1960, 5 189, 1 843.
14. Edwards J. H., Harnden D. J., Cameron A. H., Crosse M. V., Wolff O. H. — *Lancet*, 1960, 1, 787.
15. Engel E., Haddow J. E. — *Amer J. Dis. Child.*, 1967, 113, 6, 322.
16. Evans E. — *Nature* (Lond.), 1967, 214, 5 086, 361.
17. Feingold M., Schwartz R., Atkins L., Anderson R., Bartsocas C., Page D., Littlefiedd J. — *Amer. J. Dis. Child*,, 1969, 117, 2, 129.
18. Gelderen Van H. H., Gaillard J. L., Schaberg A. — *Acta paediat-stand.*, 1967, 56, 517.
19. Gerald P S., Warner S., Singer J. D., Corcoran P. A. Umansky J. — *J. Pédiat.*, 1967, 70, 172.
20. Geormăneanu M., Răiciulescu M., Dinescu D. — *Pediatria (Buc.)*, 1969, 1, 1.
21. Germain D., Requin Ch., Robert J., Viala J. J., Freycon F., Gaja M. A. — *Pédiatrie*, 1968, 2, 166.
22. Grouchy de J., Lamy M., Thieffry St., Arthuis M., Salmon C. — *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 1963, 256, 1 028.
23. Grouchy de J., Veslog J., Bonette J., Raidot M. — *Amer. J Dis. Child.*, 1968, 115, 1, 93.

24. Hayward M. D., Bower B. O. — *Lancet*, 1960, 2, 844.
25. Jalbert P., Lagier A., Gachon J. — *Pédiatrie*, 1967, 8, 963.
26. Jalbert P., Gilbert J., Leopold Ph., Mouriquad Cl. — *Pédiatrie*, 1968, 6, 703.
27. Junis J. J., — Human Chromosome Methodology, Acad. Press, New York, 1965.
28. Klein D. — Pad. Fortbildungskurse, moderne geneticlie probleme, vol. 16, Ed. S. Karger, Basel, New York, 1966, p. 41.
29. Koulischer L. — *Rev. Méd. (Bruxelles)*, 1964. 20, 3.
30. Koulischer L., Kulakovski A., Malherbe O. — *Arch. franç. Pédiat.*, 1967, 7, 839.
31. Kulakowski S., Koulischer L., Merken J. — *Arch. franç. Pédiat.*, 1966, 1, 47.
32. Lafourcade J., Lejeune J., Berger R., Rethoré M. O., Archambault I. — *Ann. Pédiat.*, 1965, 41, 1, 24.
33. Lafourcade J. — *Gaz. Méd. Fr.*, 1968, 75, 5, 931.
34. Lejeune J., Delthil P., Berger R. — *Arch. franç. Pédiat.*, 1963, 6, 737.
35. Lejeune J., Lafourcade J., De Grouchy J., Berger R., M. Gauthier, Salmon Ch., Turpin R. — *Sem. Hôp. Paris*, 1964, 18/4, 1069.
36. Lejeune J., Lafourcade J., Berger R., Rethore M. O. — *Ann. Génét.*, 1965, 8, 11.
37. Lejeune J., Berger R., Rethoré M. O., Salmon C. — *Ann. Génét.*, 1966, 9, 1, 12.
38. Lejeune J., Berger R., Lafourcade J., Réthoré M. O., — *Ann. Génét.*, 1966, 9, 1, 32.
39. Lejeune J. — Types et contratypes, Journées parisiennes de pédiatrie, Ed. Falmmarion, Paris, 1966.
40. Maximilian C., Ionescu B., Ciovîrnache M. — *Stud. Cercet. Embriol. Citol.*, 1966, V, 3, 2, 118.
41. Milcu Şt., M. Maximilian C. — Genetica umană, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1966.
42. Nielsen J., Friedrich W., Tsuboi T. — *Brit. med. J.*, 1969, 3, 5 671, 634.
43. Patau K., Smith D. W., Therman E., Inghorn S. L., Wagner H.P — *Lancet*, 1960, 1, 7 970.
44. Rauch J., Soukup S. W. — *Amer. J. Dis. Child.*, 1968, 116, 4, 409.
45. Sabatini R., Vaillaud J. C., Dutrage J., Laurent C., Sarrouy Ch. — *Sem. Hôp. Paris*, 1966, 36—37, 26, 436.
46. Saraux H., Lafourcade J., Lejeune J., Dherny P., Cruveiller J., Turpin R. — *Arch. Ophtal, Paris*, 1964, 24, 7, 581.
47. Smith D. W. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1964, 90, 1 055.
48. Stewart A., Welb J., Herwitt D. — *Brit. med. J.*, 1958, 1, 1 495.
49. Thompson H. — *Pediatrics*, 1965, 140, 718.
50. Tjio J. A., Levan A. — *Hereditas*, 1956, 42, 1, 6.
51. Todaro G. I., Green H., Swift M. R. — *Science*, 1966, 153, 1 252.
52. Trubovitz S., Kirman D., Masek B. — *Lancet*, 1962, 2, 486.
53. Turpin R., Lejeune J. — Les chromosomes humains, Ed. Gauthier Villars, Paris, 1965.
54. Turpin R. — Päd. Fortbildungskurse, vol. 16, Ed. S. Karger, Basel-New York, 1966.
55. Vasela F., Joss E., Luchsinger R., Dupois C., Gloor R., Wiesemann M. — *Helv. Paediat. Acta*, 1967, 22, 1, 13.
56. Walbaum R., Voillez M., François P., Mayolle Ph. — *Pédiat. Lyon*, 1968, 7, 782.
57. Warburg M., Mikkelsen M. — *Acta ophthal (Kbh.)*, 1963, 41, 321.

Cap. al XVII-lea

BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI UNELE ASPECTE ALE GREFELOR ȘI TRANSPLANTĂRILOR

Ed. Neumann

CONSIDERAȚII INTRODUCTIVE

Practica clinică impune destul de frecvent realizarea unor transplante de țesuturi sau organe. Pentru claritatea expunerii trebuie să definim trei noțiuni: *autoplastia* este transplantarea țesuturilor sau organelor recoltate de la același organism; *homoplastia* este transplantare de la un animal de aceeași specie; *heteroplastia* este transplantarea de la un animal de specie diferită.

Oricare ar fi felul transplantului, porțiunea transplantată își pierde inițial toate formele de legături cu organismul și necesită refacerea cît mai rapid posibilă a acestor legături. În porțiunea transplantată se distrug circulația, inervația, funcțiile organului transplantat și procesele complexe de interacțiune cu alte părți ale corpului.

Rezultatul transplantării este dependent de rapiditatea și de modul complet de refacere în transplant a legăturilor, mai sus-amintite cu receptorul. Aproape toate țesuturile care în condiții obișnuite sînt slab sau de loc irigate își pot păstra viața un interval de timp relativ scurt.

Restabilirea circulației în transplant se obține pe două căi: în primul rînd prin anastomozarea vaselor sanguine ale transplantului și receptorului și în al doilea rînd prin înmugurirea în transplant a vaselor sanguine provenite de la receptor (fig. XVII, 1 și fig. XVII, 2).

Atît în prima, cît și în a doua formă de restabilire a circulației, cercetătorii s-au izbit și se mai izbesc încă de multe dificultăți.

Vasele sanguine în transplant cresc relativ încet și pînă la creșterea lor transplantul se hrănește pe seama organismului receptor numai pe calea difuziunii și osmozei. În acest caz, vitalitatea transplantului se poate menține numai în cazul unor dimensiuni relativ reduse.

În cazul transplantării unor organe mari, chiar dacă astăzi problema anastomozelor vasculare este tehnic destul de bine pusă la punct, la locul suturii apar destul de frecvent tromboze care compromit vitalitatea ulterioară a transplantului.

Lipsa sau insuficiența inervației depline a transplantului are repercusiuni mai puțin grave decît lipsa circulației. Mecanismele umorale de reglare pot

suplea lipsa reglării nervoase. În cazurile de transplante renale reușite, aproape toată viața rinichiul transplantat va funcționa numai pe baza unei reglări umorale.

Dacă ne referim la schimburile metabolice care se realizează între transplant și organismul receptor, ne izbim de probleme mult mai complexe. Dacă este vorba de o autoplastie nu există probleme spinoase. Ele apar în cazul ho-

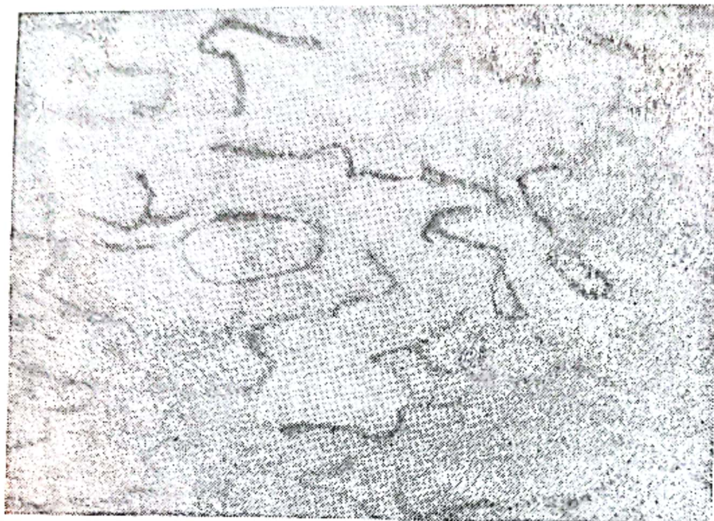


Fig. XVII, 1. Imaginea capilaroscopică a pielii normale *(după A. Castermans)*.



Fig. XVII, 2. Imaginea capilaroscopică a unei homogrefe cutanate cu reacție de rejetare, în ziua a 7-a după transplantare *(după A. Castermans)*.

moplastiilor și mai ales a heteroplastiilor. De fapt, în majoritatea cazurilor apare un conflict între transplant și receptor, care poate duce la moartea unuia sau altuia.

Acest conflict între transplant și receptor nu apare în toate formele de homoplastie. El este inexistent dacă donatorul și receptorul sînt gemeni univitelini. La fel la animalele singenice, supraviețuirea homotransplantului este un caz obișnuit. La animalele neînrudite, dacă transplantul se realizează între

membrii aceleași familii, după cum a arătat Schone (1916) și Musina (1956), o parte din animale prind homotransplantele.

În rezumat, acolo unde baza ereditară a homotransplantului și receptorului este identică nu apare conflict între ei în cursul transplantării. Aceste date demonstrează că la baza conflictului între homotransplant și receptor se află deosebirile fondului ereditar. Baza ereditară a receptorului condiționează un anumit tip de dezvoltare a metabolismului tisular, iar baza ereditară a transplantului determină un alt tip de metabolism. Acesta este fondul pe care se grefează conflictul între receptor și homotransplant.

Se manifestă deci și în cazul homotransplantării efectele unei legi biologice mai generale, aceea a conservatorismului ereditar.

Cu fenomene analoge conflictului între transplant și receptor în natură ne întîlnim relativ des. De exemplu, în cazul infecției organismului se manifestă conservatorismul ereditar atît al macroorganismului, cît și al microorganismului. Microorganismul trăind în aceste condiții își păstrează tipul metabolic specific, utilizînd macroorganismul ca sursă de hrană și în același timp eliminînd în macroorganism metaboliți specifici.

Macroorganismul își păstrează tipul său metabolic și substanțele pe care microbii le elimină în el sînt străine, antigenice, la care el va răspunde printr-o reacție imună: în sîngele macroorganismului apar anticorpi, iar în unele zone ale organismului se activează anumite celule (reticulohistiocitare). Cu ajutorul anticorpilor și a celulelor special activate, macroorganismul tinde să se debaraseze atît de metaboliții microbieni, cît și de microbii înșăși, creînd condiții incompatibile vieții acestora.

Rezultatul interacțiunii complexe dintre macro- și microorganism poate fi diferit. În unele cazuri, macroorganismul păstrîndu-și tipul metabolic propriu determină moartea microorganismelor, iar în alte cazuri, microorganismul determină asemenea perturbări în macroorganism încît acestea duc la moartea macroorganismului.

Ca o soluție de compromis atît macroorganismul, cît și microorganismul pot suferi fenomene de adaptare și în felul acesta se asigură coexistența lor.

Relațiile macroorganismului cu microorganismele sînt identice cu relațiile apărute în cursul homoplastiei (Medawar, 1946).

Homotransplantul avînd alt fond ereditar decît receptorul tinde să-și păstreze tipul metabolic și elimină în receptor substanțe străine pentru acesta, care se comportă ca antigen. Sistemul imunogenetic al receptorului răspunde la aceste antigene printr-o reacție imună. Anticorpii și celulele imunologic competente ale receptorului duc la moartea homotransplantului. Cu alte cuvinte, datorită diferențelor antigenice existente între receptor și transplant, se creează ceea ce se numește o incompatibilitate de transplantare sau cu un alt termen de histoincompatibilitate. Histoincompatibilitatea duce totdeauna la rejetarea mai rapidă sau mai tardivă a transplantului. Fenomenul de rejetare, dacă este să-l încadrăm în cadrul mare al procesului imun, este doar manifestarea particulară a așa-numitei hipersensibilități de tip întîrziat, prezentînd toate caracterele citologice, imunologice, histochimice și biochimice ale alergiei de tip tuberculinic. În baza acestei asemănări, în literatura ultimilor ani în loc să se

vorbească, în cazul incompatibilității de transplantare, de imunitate de transplantare se utilizează, poate mai adecvat, termenul de alergie de transplantare. Credem că însuși fenomenul reacției secundare, care este prezent atît în hipersensibilitatea întîrziată de tip tuberculinic, cît și în rejetarea mai accelerată a unui al doilea transplant făcut după o primă rejetare justifică din plin termenul de alergie de transplantare.

Practic vorbind, în determinismul compatibilității tisulare, în vederea reușitei unei transplantări de organ sau țesut, rolul fundamental îl joacă structura antigenică a transplantului și receptorului. Or, această structură antigenică este determinată genetic și manifestările condițiilor genetice particulare în cazul transplantării vor depinde de așa-numitele antigene de transplantare.

Progresele realizate în imunogenetică au împins înainte rezultatele cercetărilor în domeniul transplantării.

Bazele genetice ale transplantării au fost puse în 1914 de către Litle, cu toate că cercetări sporadice au fost făcute chiar înaintea acestui autor. Astfel, Loeb, la începutul secolului a stabilit că tumoarea spontană a șoarecelui japonez poate fi transplantată la toți indivizii aparținînd aceleiași linii, dar grefele tumorale nu prind în cazul transplantărilor la indivizii din altă linie. Mai tîrziu Tyzzer a observat că posibilitatea de prindere a transplantului se moștenește, însă nu după legile mendeliene. De fapt, această capacitate există la toți indivizii din generația F_1, în schimb dispare aproape complet în generația F_2. Litle a arătat însă că, dacă avem în vedere nu o pereche de gene, ci 14—15 gene, atunci rezultatele lui Tyzzer pot fi încadrate foarte bine în legile mendeliene.

LOCUSURILE H

Cifra 14 amintită înainte este și astăzi valabilă. Se pare că la șoarece, compatibilitatea este determinată de 14—15 locusuri. Cu alte cuvinte, acesta este numărul de locusuri care ar trebui să fie concordante pentru supraviețuirea transplantului. Realitatea este însă că aceste locusuri au proprietăți fiziologice diferite și pînă în prezent nu s-a putut demonstra cu certitudine existența fiecărui locus. Sigură este prezența locusurilor H_{1-11}. Din punctul de vedere al reușitei transplantului, numai 4 din aceste locusuri sînt definitorii (H_1, H_2, H_3 și H_4), dintre care rolul preponderent îl joacă locusul H_2. Dacă diferența între donator și receptor se află la nivelul locusului H_2, atunci durata de supraviețuire a transplantului nu depășește 10—12 zile. Diferențele la nivelul locusurilor H_1 și H_3 duce la o supraviețuire de 90 de zile, iar discordanța la nivelul locusului H_4 poate asigura o supraviețuire a transplantului de lungă durată.

Locusurile H reprezintă de fapt determinanții histocompatibilității. Care este semnificația lor? Aceste locusuri controlează sinteza unor proteine cu caracter antigenic, deci dacă există diferențe între aceste locusuri, apar și diferențe în structura antigenelor controlate de ele. Durata de viață a transplantului se găsește în corelație pozitivă cu relația genetică dintre donator și receptor, care se manifestă prin diferențe antigenice tisulare, iar pe planul individului, prin specificitate biologică.

ANTIGENELE DE TRANSPLANTARE

Literatura clasică a transplantării deosebeşte două antigene: H (care condiţionează formarea anticorpilor umorali) şi T (de transplantare).

Antigenul H este legat de anumite structuri ale membranelor. El a putut fi pus în evidenţă în membrana celulară, în sistemul lamelar intracelular, în fracţiunea lizozomală, în microzomi. După alte cercetări, activitatea antigenului H se găseşte în proporţie de 50% în nuclei. El este probabil de natură fosfolipidică, iar grupările determinante sînt date de aminopolizaharide.

Antigenul T este de natură nucleoproteinică şi evidenţierea lui, la ora actuală, se face exclusiv prin metode biologice. De fapt, antigenul T ar răspunde de imunitatea de transplantare şi de reacţiile de hipersensibilitate de tip întîrziat.

În literatura ultimilor ani se conturează tendinţa de a nu separa antigenele de transplantare în antigene H şi T. Probabil este vorba de un singur antigen şi separarea anterioară a fost rodul unor artefacte tehnice.

EVOLUŢIA IMUNITĂŢII DE TRANSPLANTARE

A. FILOGENEZA IMUNITĂŢII DE TRANSPLANTARE

Philips şi Yardley au arătat că dacă se injectează serum-albumină de bou la celenterate, de la care după un anumit interval de timp se fac extracte, se obţin substanţe care inhibează antigenul şi formarea anticorpilor la iepurii injectaţi cu aceste antigene. Se poate presupune că deja la celenterate ar fi prezente unele substanţe cu caracter de anticorpi. Totuşi la celenterate nu s-a putut pune în evidenţă reacţii de incompatibilitate tisulară, transplantele prind bine şi cresc. La vertebrate, situaţia se schimbă întrucîtva, deoarece la vertebratele inferioare, cum sînt amfibienii, în faza în care premerge metamorfoza, se pot efectua cu succes atît homotransplantări, cît şi heterotransplantări. După terminarea metamorfozei se manifestă, întocmai ca la mamifere, fenomene de incompatibilitate tisulară, mai mult şi reacţia secundară se desfăşoară din plin. Hildemann şi Haas au pus în evidenţă la teleosteeni rejetarea primară la 7,2—7,5 zile, iar rejetarea secundară la 4,1—4,2 zile.

Ceea ce este particular la fenomenul descris mai sus constă din faptul că, deşi în imunitatea de transplantare predomină reacţiile celulare, totuşi, apariţia rejetării transplantelor coincide din punct de vedere filogenetic cu perioada în care se instalează şi imunitatea umorală.

B. ONTOGENEZA IMUNITĂŢII DE TRANSPLANTARE

Cercetările existente au demonstrat că în cazul amfibienilor, imunitatea de transplantare apare după metamorfoză; la puii de găină, ea se manifestă în ziua a 18-a de incubaţie, iar la mamifere apariţia imunităţii de transplantare

coincide perioadei perinatale. Momentul nu poate fi determinat cu exactitate, deoarece variază după specii și în cadrul aceleași specii se dezvoltă treptat. În timp ce față de unele antigene există deja un răspuns imun, acesta lipsește față de alte antigene. Pe de altă parte este vorba și de lipsa suficientă de sensibilitate a metodelor imunologice de cercetare. În legătură cu acesta trebuie reamintit că, după cum reiese din cercetările lui Hildemann, la mamifere imunitatea de transplantare apare mai repede decît anticorpii serici. Aceasta s-ar datori faptului că reacția celulară — care joacă un rol predominant în imunitatea de transplantare — apare mai repede decît puternica reacție imună umorală și deja cantități minime de anticorpi sînt suficiente pentru ca celulele să desfășoare reacția de transplantare. S-ar putea — admit unii autori — ca metoda biologică a transplantării să fie mai sensibilă decît metoda de determinare *in vitro* a anticorpilor.

Se pare că, pentru manifestarea reacției de transplantare, întocmai ca pentru aceea a răspunsului imun umoral, este necesară prezența limfociților. Această ipoteză este argumentată prin experiențele lui La Via și colab., care au arătat că la *Oposum* primele semne ale imunității se observă numai după apariția limfociților.

ROLUL FACTORILOR TISULARI ÎN IMUNITATEA (ALERGIA) DE TRANSPLANTARE

Prima întrebare pe care a ridicat-o această problemă era determinarea naturii celulelor care participă în cursul fenomenelor imunității tisulare în general și a imunității de transplantare în special.

Datele lui Gowans și colab. (1962), ale lui Hildemann și colab. (1962) au arătat o reacție a transplantului împotriva receptorului în cazul administrării unei suspensii de limfocite mici. În cercetările lui Terasaki (1959), 3.10^4 limfocite provenite din sîngele circulant declanșau o reacție transplant-contra receptor, în timp ce 62.10^4 monocite nu aveau această capacitate.

Limfocitele marcate cu timidină, leucină sau adenozină tritiată, administrate animalelor omologe, pot fi regăsite în pulpa albă a splinei și în stratul cortical al ganglionilor limfatici ai receptorului la 8 ore după administrare, iar după 12—24 de ore se transformă în celule pironinofile. Aceste celule, trecînd prin mitoze succesive, se transformă în limfociți mici care din ganglionii limfatici trec în circulația generală și se comportă ca celule imunocompetente.

Pentru rolul important al limfociților pledează faptul că la animalele timectomizate la naștere și care posedă toate tipurile de celule, cu excepția limfociților mici, nu se poate realiza o alergie de transplantare și se sistează și anticorpigeneza (Miller, 1961, 1962; Arnsason și colab., 1962; Dalmasso și colab., 1962).

Celulele mamiferelor timectomizate nu sînt capabile să realizeze nici reacția transplant-contrareceptor (Dalmasso și colab., 1962). Scăderea exclusivă a limfociților mici, care se însoțesc de inhibarea tuturor reacțiilor imune, s-a observat și la animalele mature, dacă după timectomie ele au fost supuse iradierii subtotale și apoi tratate cu măduvă izologă. La animalele cu număr de limfocite mai scăzut (prin drenajul limfatic prelungit al canalului toracic), Mc. Gregor (1963) a reușit să atenueze atît fenomenele alergiei de transplantare,

cît şi anticorpigeneza. Waksman şi Arbousy (1960) observă aceleaşi fenomene la cobaii trataţi cu ser antilimfocitar de iepure.

Inhibarea competenţei imunologice, consecutivă scăderii cantităţii limfociţilor mici, are loc numai dacă intervenţiile mai sus amintite se efectuează pe animale în prealabil neimunizate. Reacţia imunologică secundară nu mai este influenţată de scăderea conţinutului de limfociţi mici.

Rolul limfociţilor mici se manifestă în etapele iniţiale ale procesului imunogenetic, cele care premerg anticorpigeneza. În cîştigarea competenţei imunologice de către limfociţii mici, un rol hotărîtor revine recirculării continue ale acestor celule în organism — din circulaţie în ganglionii limfatici şi prin limfă înapoi în circulaţie (Gowans, 1959; Harris, 1961). Circuitul limfociţilor în organism a fost urmărit de Gowans şi Knight (1964), în mod direct prin administrare de limfocite marcate.

Se poate admite că datorită migrării lor continue în organism, limfociţii mici posedă capacitatea de a veni în contact direct cu antigenul înainte de pătrunderea acestuia în ganglionii limfatici, ceea ce necesită timp (mai ales cînd antigenul ajunge în organism sub forma de transplant solid). S-ar putea — presupune Gowans (1962) — ca, după contactul cu antigenul, limfociţii mici capabili de transformări ulterioare să fie sechestraţi în ganglionii limfatici şi să se transforme apoi în celule anticorpiformatoare.

Cele afirmate mai sus acordă limfocitului mic două funcţii corelate: 1) o funcţie legată de hipersensibilitatea de tip întîrziat în general şi de alergia de transplantare în special; 2) o funcţie legată de convertirea lor în celule anticorpiformatoare.

În ce mod realizează limfocitul aceste funcţii?

Răspunsul la această întrebare necesită delimitarea prealabilă a particularităţilor limfocitului imun faţă de ale celui normal. Pe baza lucrărilor lui Pappenheimer şi colab. (1959) şi ale lui Sterzl se admite că antigenul, în primele etape ale procesului de imunizare, induce pe suprafaţa limfocitului mic o „configuraţie complementară" corespunzătoare, care apoi dă posibilitatea celulei de a se uni direct cu antigenul. Unirea cu antigenul condiţionează distrugerea unora din limfocite şi eliberarea enzimelor proteolitice intracelulare (Amos, 1960, 1962). Dacă fenomenul are loc la nivelul unui homotransplant, consecinţa este distrugerea acestuia.

Admisă ca ipoteză, prezenţa configuraţiei complementare specifice pe suprafaţa limfocitului imun este confirmată printr-o serie de date experimentale. Încă în 1955 s-a arătat că, în cazul administrării intravenoase a limfociţilor imuni la animale neimunizate în prealabil, aceştia transferă, fără vreo perioadă de incubaţie, hipersensibilitatea de tip întîrziat faţă de antigenul corespunzător. Există dovezi mai elocvente ale contactului direct al celulelor imune cu antigenul. Astfel, Scheriffart şi colab. (1963) demonstrează la iepuri, la care s-a creat o alergie de transplantare, adsorbţia antigenului pe limfocite.

Adsorbţia specifică a antigenului de către limfociţii imuni nu poate fi atribuită anticorpilor „citofili", căci capacitatea de a absorbi din ser anticorpii citofili o posedă celulele oricărui ţesut, iar amploarea acestei adsorbţii depinde de diametrul celulelor (Keller şi colab., 1963), în timp ce imunitatea tisulară este o funcţie specifică a sistemului limfoid.

În ultimii ani au fost obținute mai multe date, care pledează pentru capacitatea limfociților imuni de a se uni specific cu antigenul și majoritatea lor subliniază prezența pe suprafața acestora a unei structuri complementare; aceasta dă posibilitatea de a se uni specific cu antigenul.

În 1963, Najarian și Feldman au realizat transferul imunității specifice față de homotransplant, cu ajutorul γ-globulinei izolate din limfociți imuni, γ-globulinele serice neavînd această capacitate.

Această observație experimentală a deschis problema încă foarte puțin bătătorită a naturii anticorpilor celulari.

Lawrence și colab. au postulat existența unui așa numit „factor de transfer", care poate fi izolat din celulele cu competență imunologică. Eliberarea factorului de transfer din limfociți s-a realizat prin tratarea lor cu apă distilată, congelare și decongelare repetată.

După unele date, factorul de transfer ar fi o γ-globulină (Cole, Favour — 1955; Rauch, Favour — 1960; Klein, Pathode — 1963). Cercetările cromatografice pe DEAE-celuloză nu au putut confirma această ipoteză.

S-a încercat identificarea naturii anticorpilor celulari prin urmărirea efectului citotoxic cu diferite fracțiuni obținute din limfociți imuni asupra homotransplantului (Wilson și Crosbi, 1952). Rezultatul a fost că toate fracțiunile testate prezentau efect citotoxic. Rămîne totuși în atenția cercetărilor viitoare lucrările lui Powell și colab. (1962, 1964), care au arătat că fracțiunea insolubilă a extractului limfocitar de cobai imuni față de homotransplant determină hipersensibilitate de tip întîrziat dacă se administrează intracutanat la donatori. Activitatea acestei fracțiuni nu se modifică prin tratare cu ADN-ază și ARN-ază, dar este distrusă de tripsină.

Este larg răspîndită părerea despre imposibilitatea de a se separa un anticorp celular activ de structura limfocitului imun. Credem că, deși tacit, această părere a stat la originea lucrărilor care au vizat prepararea serului antilimfocitar pentru deprimarea imunității de transplantare și în care imunizarea se face cu suspensii de limfocite intacte.

BLASTOGENEZA LIMFOIDĂ, INDICATOARE A ALERGIEI DE TRANSPLANTARE

Rolul limfocitilor mici în imunitatea celulară în general și în cazul particular al alergiei de transplantare pare un fapt bine dovedit. Una dintre manifestările pregnante ale răspunsului limfocitilor la acțiunea antigenelor este transformarea lor blastoidă. Acest fenomen se poate urmări bine *in vivo* (fig. XVII, 3; XVII, 4; XVII, 5; XVII, 6; XVII, 7; XVII, 8), dar se poate decela în condiții experimentale bine codificate și *in vitro* pe culturi limfocite.

Blastogeneza limfoidă, pe lîngă importanța teoretică în studiul imunității tisulare, a fost rapid valorificată în practica clinică. A devenit o examinare de rutină în studiul alergiei medicamentoase, în diagnosticul bolilor sistemului limforeticular și mai ales în determinarea histocompatibilității tisulare.

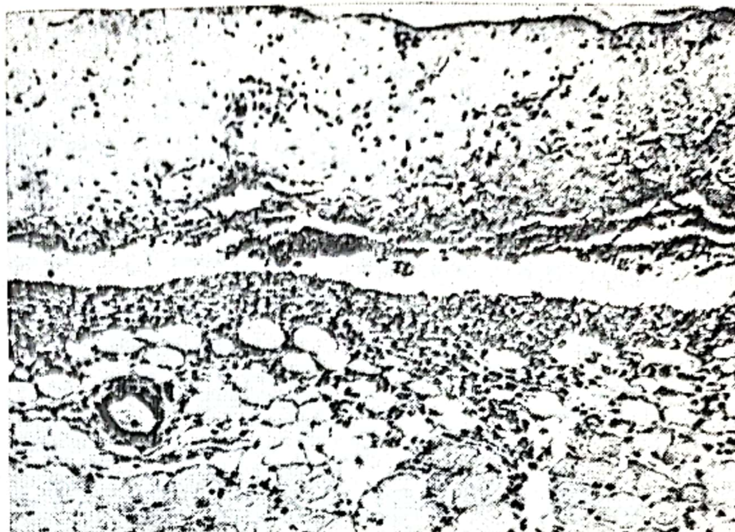


Fig. XVII, 3. Imaginea histologică a unei homogrefe cutanate cu reacție de rejetare *(după A. Castermans).*

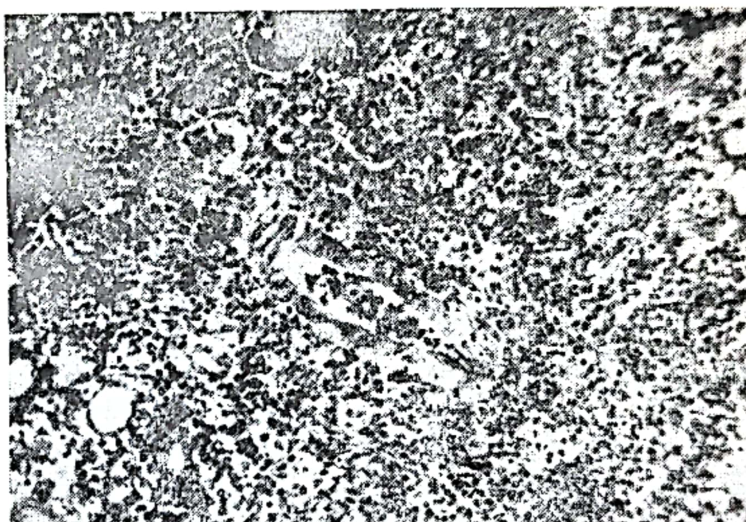


Fig. XVII, 4. Homotransplant renal cu infiltrație histioplasmocitară și necroza parenchimului adiacent *(după A. Govaerts).*

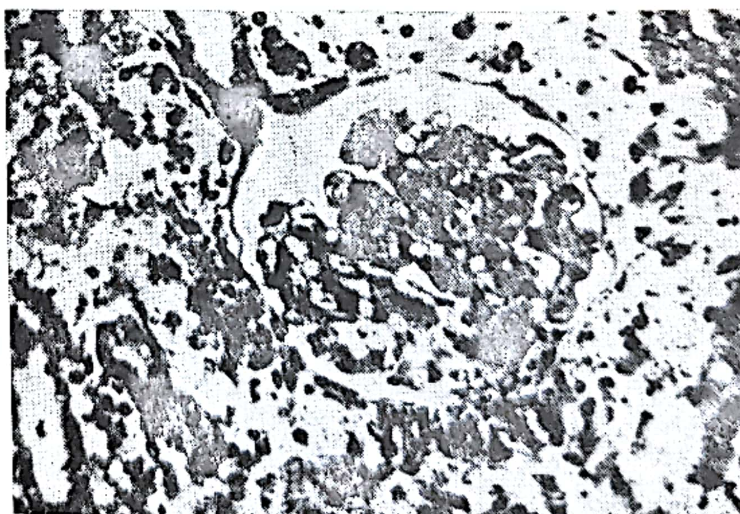


Fig. XVII, 5. Tromboza arterei aferente glomerulare în rinichiul transplantat, prezentînd fenomene de rejetare *(după A. Govaerts).*

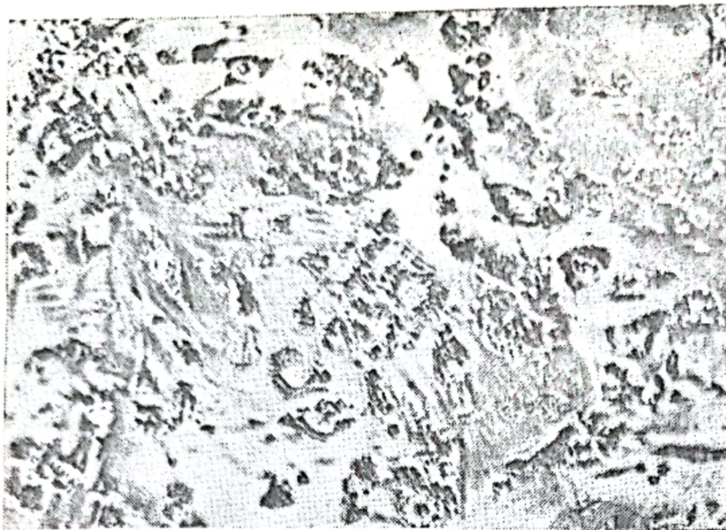


Fig. XVII, 6. Cultură renală cu suspensie de limfocite, după 24 de ore de contact *(după A. Govaerts).*

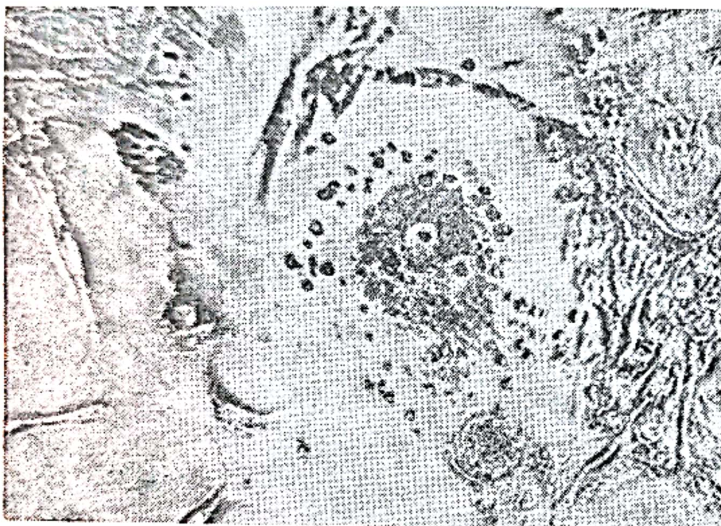


Fig. XVII, 7. Cultură renală cu suspensie de limfociți. Se observă coroanele de limfociți *(după A. Govaerts).*

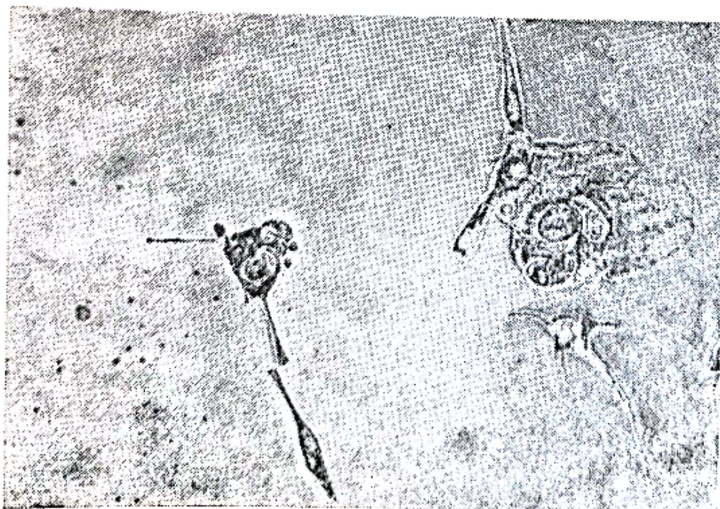


Fig. XVII, 8. Cultură renală în prezență de limfociți și complement. Se observă liza aproape completă *(după A. Govaerts).*

Totalitatea substanţelor care declanşează transformarea blastoidă au fost denumite mitogene. Există mitogene specifice şi nespecifice.

Pentru studiul transformării blastice a limfocitelor se utilizează culturile de limfociţi circulanţi trataţi cu substanţe a căror acţiune mitogenă dorim să o evidenţiem. În cazul studiului compatibilităţii tisulare, substanţa mitogenă studiată este reprezentată prin antigenele de transplantare.

Prezenţa incompatibilităţii tisulare face ca antigenele de transplantare să ducă la transformarea blastică a limfociţilor din cultură cu creşterea volumului lor, vacuolizări citoplasmatice, prezenţa de nucleoli în nuclei şi asocierea frecventă în grupuri a limfociţilor. Desigur, de multe ori examenul morfologic pentru aprecierea proporţiei transformării blastice este insuficient. În acest caz se recurge la studiul metabolismului ADN limfocitar din cultură, cu ajutorul ADN ce conţine timidină tritiată.

Transformarea blastică a limfociţilor reprezintă manifestarea morfologică a imunocompetenţei acestora. Acest caracter morfologic este însoţit de modificări metabolice marcate. Prima modificare este degradarea parţială a ARN. De asemenea se poate evidenţia precoce activarea fermenţilor lizozomali.

Degradarea parţială a ARN este urmată de neoformarea de ARN mai ales informaţional. Nu este complet elucidat rolul ARN neoformat. S-ar putea ca moleculele de ARN informaţional să dirijeze creşterea celulei şi pregătirea sintezei unor noi molecule de ARN.

Alte molecule de ARN ar putea dirija diferite răspunsuri metabolice nuanţate, poate chiar sinteza imunoglobulinelor. Deşi semnificaţia exactă a diferitelor modificări metabolice descrise în cursul blastogenezei limfoide nu este precizată, cert este că ea semnalizează prezenţa unui proces imun în genere şi alergiei de transplantare în cazul particular urmărit de noi.

SERUL ANTILIMFOCITAR HETEROLOG (S.A.L). ŞI ALERGIA DE TRANSPLANTARE

Rezultatele bune obţinute în cursul transplantărilor prin aplicarea S.A.L. au fost premerse de o dezvoltare explozivă a cercetărilor experimentale.

Părintele S.A.L. este Mecinikov, care la sfîrşitul secolului trecut a publicat observaţiile sale făcute la Institutul Pasteur din Paris. Imunizînd iepuri cu ţesut limfatic provenit de la şobolani şi cobai, a obţinut un ser antilimfocitar, care *in vitro* a influenţat semnificativ activitatea şi fagocitoza celulelor de şobolani şi cobai şi era toxic asupra granulocitelor şi limfocitelor.

Cercetările ulterioare au arătat că erau mai active serurile obţinute prin imunizări repetate. Antiserurile astfel obţinute *in vitro* distrugeau celulele limfoide sau reduceau mobilitatea celulelor. Capacitatea lor aglutinantă persistă şi după decomplementare termică.

În experienţe *in vivo*, după administrarea S.A.L. s-a remarcat o limfopenie trecătoare şi involuţia tranzitorie a organelor limfoide. Acest fenomen nu putea fi explicat printr-un efect citotoxic, deoarece activitatea S.A.L. persista şi după absorbţia citotoxinelor.

S.A.L. reduce şi hipersensibilitatea de tip tuberculinic, iar în 1963, Woodruff şi Anderson au demonstrat scăderea imunităţii de transplantare

sub acţiunea S.A.L. În experienţele lor, S.A.L. de iepure a prelungit semnificativ supravieţuirea alotransplantelor cutanate. Aceste cercetări au deschis o fază nouă în studiul S.A.L.

Numai după cercetări timp de un deceniu a fost posibilă S.A.L. să fie aplicată şi în clinică, ca un puternic agent imunodepresor. Experienţele obţinute la transplantările renale, au arătat că tratamentul cu S.A.L. — în asociere cu alte imunodepresoare — prelungeşte mult durata de supravieţuire a rinichilor şi în plus se putea reduce şi doza imunodepresoarelor uzuale. Mai mult, imunoglobulina purificată din S.A.L. poate fi administrată fără pericol şi pe cale intravenoasă.

În general S.A.L. se obţine prin imunizarea animalelor de alte specii (xenogene) cu celule limfoide. N-au dat rezultate imunizările alogene.

Prepararea S.A.L. deocamdată este destul de empirică. Diferiţi autori aplică scheme diferite de imunizare şi chiar pe lîngă aceeaşi schemă de imunizare, activitatea S.A.L. obţinută este foarte diferită.

Rezultatele experimentale pe animale au demonstrat o acţiune limfopeniantă a S.A.L. cu caracter trecător. Nu există o dependenţă directă între gradul limfopeniei şi acţiunea imunorepresoare. Mulţi autori au descris involuţia timusului după S.A.L. Această observaţie a reprezentat punctul de plecare al ipotezei, potrivit căreia S.A.L. îşi manifestă efectul imunodepresor prin releu timic. Astăzi însă s-a încetăţenit părerea că involuţia timică este consecinţa secundară a *stress*-ului de tratament.

La nivelul ganglionilor limfatici, astăzi este dovedită acţiunea S.A.L. asupra foliculilor limfoizi paracorticali, iar în splină la nivelul regiunii periarteriolare. De fapt, în aceste regiuni sînt localizate limfocitele timodependente răspunzătoare de răspunsul imun celular.

O deosebită atenţie a fost acordată studiului rinichiului după administrarea S.A.L., deoarece tratamentul cu proteine heterologe incumbă posibilitatea apariţiei unei nefrite de tip Masugi şi a unei nefrite serice. În primul caz, S.A.L. se poate fixa de celulele endoteliale renale şi să le lezeze; în ultimul caz, leziunea renală poate fi consecinţa sechestării renale a imunoglobulinelor anti-S.A.L. şi a microprecipitatelor de S.A.L. Dacă în experienţele pe animale, asemenea leziuni au fost puse în evidenţă, în biopsiile renale la bolnavii trataţi cu S.A.L. nu s-au putut pune în evidenţă IgG S.A.L.

Acţiunea S.A.L. *in vivo* a fost studiată în multe fenomene imune şi autoimune. Vom trece peste acestea, oprindu-ne asupra efectului S.A.L. în alergia de transplantare. Primele observaţii au fost făcute în acelaşi timp de două colective de cercetări: în Anglia, Medawar, Levey şi Lance, iar în S.U.A. Russel, Gray şi Monaco.

După aceste cercetări, S.A.L. deprimă nu numai reacţia de rejetare cutanată alogenă, ci şi — în măsură mai mică — cea xenogenă. S.A.L. deprimă memoria imunologică legată de celule.

Caracterul acţiunii S.A.L. depinde şi de deosebirile genetice dintre donator şi receptor. În cazul unor deosebiri genetice puternice (H-2), numai S.A.L. puternic are efect, efectul imunodepresor fiind prezent în toate serurile antilimfocitare, în cazul deosebirilor genetice slabe (H-3).

În experiențe *in vitro*, pe diferite modele s-a demonstrat efectul imunodepresor al S.A.L.: imunoaderența, capacitatea de a forma colonii etc.

S.A.L. induce în limfocite procese metabolice fundamentale: determină transformarea blastică a 60—90% din limfocite. Apogeul blastogenezei limfocitare se observă la 72 de ore după tratament. Sub acest raport, acțiunea S.A.L. se aseamănă cu cea a serului antiglobulinic și a fitohemaglutininei.

S.A.L. inhibează transformarea blastică în cultura mixtă limfocitară.

	Activitate biologică	Acțiune	
Fab' Fab' Fc 7 S	Citotoxicitate Leucoaglutinare Transformare blastică Imunodepresiune	+++ +++ +++ +++	
F(ab)2 5 S	Citotoxicitate Leucoaglutinare Transformare blastică Imunodepresiune G.V.H. reacție	— + + + + — ∓	
Fab' 3,5 S	Citotoxicitate Leucoaglutinare Transformare blastică Imunodepresiune	— — ∓ ∓	

Fig. XVII, 9. Schema efectelor biologice ale Ig G-SAL și a fragmentelor F/ab/2 și Fab *(după K. Nouza și colab.).*

Întrucît serurile antilimfocitare au fost obținute prin hiperimunizare nu este surprinzător că activitatea antilimfocitară este schimbată de IgG (7 S). Fracțiunea IgG purificată a S.A.L. a fost denumită globulină antilimfocitară (GAL). Numai 1—3% din preparatele purificate de GAL se leagă de suprafața limfocitelor; numai această mică fracțiune poate fi considerată anticorp antilimfocitar „adevărat". Restul de 97—99% reprezintă substanțe de balast care pot scădea acțiunea antilimfocitară pură a GAL.

Au fost deja întreprinse cercetări pentru studiul relațiilor dintre structura submoleculară a GAL și efectul ei imunodepresor (fig. XVII, 9).

Prin digestie pepsinică, molecula IgG poate fi scindată în fragmentul F (ab)2; acest fragment induce transformarea blastică și condiționează leucoaglutinarea. Fragmentul monovalent F ab' are o activitate biologică mult mai mică și nu are acțiune imunodepresoare.

Fragmentul Fc, obținut prin digestie papainică, este purtătorul specificității de specie și a receptorilor necesari fixării complementului. După cum reiese din fig. XVII, 9, prezența fragmentului Fc este necesară pentru activitatea imunodepresoare.

Nici pînă în prezent nu se cunoaște mecanismul de acțiune a S.A.L. Au apărut numeroase teorii, parțial fundamentate experimental, dar sigură nici

una nu explică acțiunea complexă a S.A.L. Deoarece fiecare din teoriile emise conține un sîmbure de adevăr, în figura XVII, 10, redăm diferitele teorii emise.

Care sînt perspectivele tratamentului cu S.A.L.? Trebuie să remarcăm întîi că tratamentul intravenos cu S.A.L. care în lumina concepțiilor clasice ale imunologiei ar părea foarte periculos, s-a arătat un tratament imunodepresor foarte eficace. Totuși, tratamentul prelungit nu este lipsit de riscuri, deoarece au fost obținute fenomene locale și generale de intoleranță și de asemenea se obțin anticorpi îndreptați împotriva S.A.L. („self antidotal effect").

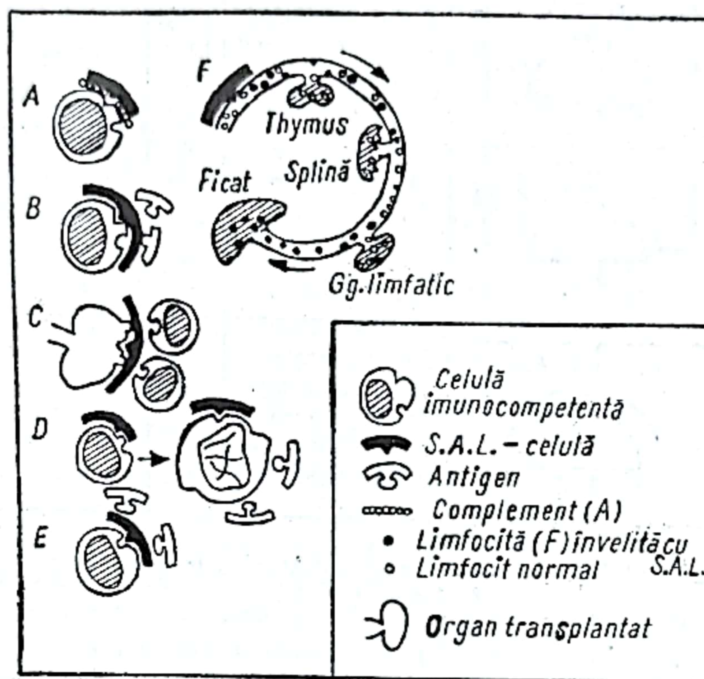


Fig. XVII, 10. Prezentarea schematică a principalelor teorii despre mecanismul de acțiune a serului antilimfocitar.

A—acțiune limfolitică; B—efectul de învelire a receptorilor de pe suprafața limfociților; C—efectul de acoperire a antigenelor de pe suprafața organului transplantat; D—SAL prin efect competitiv inhibează reacțiile imune (*după K. Nouza și colab.*).

Totuși, purificarea înaintată a GAL a redus mult riscurile tratamentului și asocierea cu alte imunodepresoare a condiționat și reducerea cantității de S.A.L., necesară asigurării toleranței de transplantare.

GENETICA HISTOCOMPATIBILITĂȚII UMANE

Ea a fost studiată cu ajutorul imunogeneticei, utilizîndu-se metodele proprii de cercetare a acesteia din urmă. Concret, studiul geneticei histocompatibilității umane constă din analiza teoretică a situațiilor genetice care se pot întîlni într-o populație umană, care apoi se confruntă cu studiile globale de histocompatibilitate realizate în cazul transplantării renale, grefelor de piele și al culturilor mixte limfocitare.

Într-o populație umană, căsătoriile se fac de obicei, sub raport genetic, la întîmplare și astfel raporturile genetice realizabile sînt în funcție de următoarele posibilități: partenerii sînt neconsanguini (NC), membri ale aceleași fratrii (FF), ascendenți sau descendenți (părinte-copii) (PC).

Probabilitățile de compatibilitate în aceste trei eventualități au fost calculate de Newth, care pentru un singur locus în funcție de *n* alele cu frecvențe egale a ajuns la următoarele formule ale probabilității histocompatibilității între parteneri:

$$PC = \frac{2n-1}{n^2}$$

$$PP = \frac{n^3+4n^2+2n-3}{4n^3}$$

$$NC = \frac{4n-3}{n^3}$$

Lunghi, apoi Serra și O'Mathuna au generalizat formulele lui Newth pentru cazurile cu mai multe locusuri, ocupate de un număr variabil de alele.

Analizele făcute concret și generalizarea lor statistică arată că în cazul asocierii părinte-copil, fiecare copil are totdeauna o alelă identică cu una din cele două alele ale fiecărui părinte. În 100% din aceste cazuri, diferența maximă va fi constituită de jumătate din caracterele transmise de celălalt părinte.

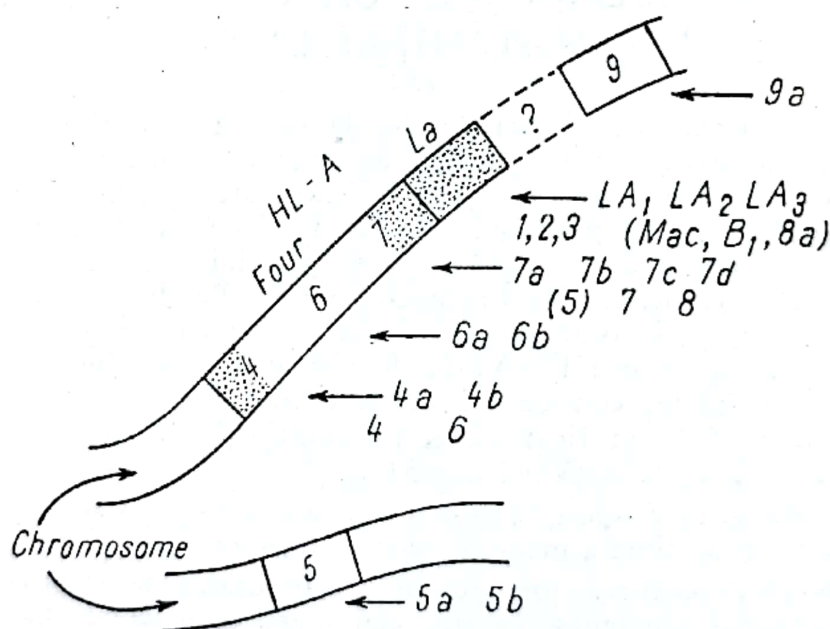


Fig. XVII, 11. Localizarea schematică a informației genetice pentru antigenele leucocitare pe cromozom *(după J. J. van Rood).*

În cazul asocierii a doi membri ai aceleiași fratrii, diferența maximă va fi reprezentată de 50% a caracterelor celor doi parteneri, 25% din perechile fraterne sînt identice pentru caracterele considerate. În 25% din

cazuri, diferențele genetice în interiorul fiecărei perechi sînt identice cu cele existente în interiorul cuplului parental.

În practica transplantărilor, importanța imediată este dată nu de numărul tuturor locusurilor de histocompatibilitate și de alelele lor, ci de numărul de alele care dirijează antigenele „puternice“ de histocompatibilitate. Cercetările lui Simonsen în cazul transplantărilor renale, cele ale lui Ceppelini în grefele cutanate și, în sfîrșit, testele de cultură mixtă limfocitară atestă justețea celor afirmate mai sus.

În baza hotărîrii O.M.S., sistemul principal de histocompatibilitate la om a fost denumit HL-A. Principalele sisteme de histocompatibilitate umane la om sînt:

HL—A1 = antigen 11
HL—A2 sau Mac = antigen 1
HL—A3 = antigen 12
HL—A5 = antigen 5
HL—A7 = antigen 10
HL—A8 = antigen 8

În fig. XVII, 11 este dată, după Van Rood, repartizarea în locusuri și sublocusuri a principalelor antigene de histocompatibilitate la om.

LOCALIZAREA TISULARĂ ȘI CELULARĂ A ANTIGENELOR DE TRANSPLANTARE LA OM

Distribuția și concentrația antigenelor la nivelul țesuturilor și localizarea lor în structurile celulare condiționează în ultimă analiză rolul lor biologic. Antigenele de histocompatibilitate pot fi repartizate în mare concentrație în multe țesuturi, să fie deci pluritisulare, și în felul acesta imunitatea de transplantare este specifică nu organului, ci individului sau să fie slab reprezentate în unele organe, sau să lipsească complet. Berah și colab. au studiat repartizarea antigenelor pluritisulare. Aceste cercetări au permis evaluarea concentrațiilor antigenelor HL—A2 în diverse organe. În comparație cu concentrația lor în splină, considerată convențional 100%, în plămîn această concentrație este 50%, în ficat 40%, în intestin 30%, în rinichi 25%, în inimă și stomac 10%, în aortă și creier 5%.

Rezultă de aici că specia celulară în care concentrația antigenică este mai mare va fi prima țintă a mecanismelor de rejetare.

O importanță decisivă prezintă și accesibilitatea antigenelor, prezența la suprafața celulei implicînd un risc mai mare de rejetare. În cazurile în care se stabilește o continuitate vasculară între receptor și transplant, țesuturile cele mai vascularizate sînt mai expuse mecanismelor de rejetare.

Localizarea antigenelor sistemului HL—A la nivelul leucocitelor este superficială. Experiențele lui Van Rood de fracționare celulară confirmă această localizare la nivelul membranelor, care sînt capabile de a induce o imunitate de transplantare.

Nomenclatura internaţională a antigenelor de transplantare la om, elaborată la a IV-a Reuniune internaţională de histocompatibilitate (Los-Angeles-Palm-Springs, Ianuarie, 1970)

	Nomenclatura HL-A	Frecvenţa medie a reacţiilor pozitive	Nomenclatura veche				
			Dausset	Kissmejer-Nielsen	Walford	Ceppellini	Terasaki
Seria I (LA)	HL-A_1	24–27*	Da_{11}	KN-LA_1	Lc1	To8	Te1
	HL-A_2	41–53	Da_1(Mac)	KN-La_2	Lc2	To9	Te2
	HL-A_3	22	Da_{12}	KN-LA_3	Lc3	To10	Te8
	HL-A_9	20–23	Da_{16}	—	Lc11	To12	—
	HL-A_{10}	11	Da_{17}	—	Lc20	To13	Te12
	HL-A_{11}	10–13	Da_{21}	KN-ILN	—	To26	Te13
Seria a II-a (a patra)	HL-A_5	12	Da_5	—	—	To5	Te6
	HL-A_7	19	Da_{10}	KN-4B	Lc8	To20	Te5
	HL-A_8	17–23	Da_8	—	Lc7	To7	Te11
	HL-A_{12}	25–28	Da_4	KN-T_{12}	Lc26	To11	Te9
	HL-A_{13}	5–6	—	KN-HN	—	To21	Te26

* Frecvenţa medie a fost stabilită pe baza examinărilor făcute în 15 laboratoare. S-au utilizat limfocite de la 546 de donatori luaţi la întîmplare.

Elaborată de: *Albert E.; Allen F., Amos D. B.; Batchelor R.; Bodmer W.; Cepellini R.; Dausset J.; Enbelfriet J.; Jeannet M.; Kissmeyer-Nielsen F.; Mattiuz P.; Mickey M. R.; Morris P.; Payne R.; Piazza A., Terasaki P.; van Rood J. J.; Walford R.; Zmijewski C.*

VALOAREA APLICATIVĂ A STUDIULUI HISTOCOMPATIBILITĂŢII

Ea se referă la selecţionarea donatorului şi receptorului într-un caz concret de transplantare. Este vorba de a face o selecţionare între diferite combinaţii posibile: selecţionarea celui mai adecvat donator pentru un receptor dat sau alegerea celui mai bun receptor pentru un donator dat. Această ultimă eventualitate se referă la cazurile — ce vor fi din ce în ce mai frecvente — de transplantare a organelor conservate, provenite de la cadavre.

Oricare ar fi aspectul urmărit în ultimă analiză, va trebui să selecţionăm un donator ale cărui ţesuturi au capacitatea cea mai redusă de a genera un răspuns imun la receptor.

Pentru a face o asemenea selecţionare, în lumina cunoştinţelor pe care le aveam asupra biologiei histocompatibilităţii, va trebui să aplicăm teste de decelare a gradului de histocompatibilitate. Un test ideal de histocompatibilitate, după Brent, trebuie să corespundă următoarelor 6 cerinţe:

1. să fie un test de excludere, adică, să elimine combinaţia donator-receptor, susceptibilă de a genera un răspuns imun intens;
2. să fie un test de selecţie, adică capabil de a alege combinaţia în care reacţia imunitară este cea mai redusă;
3. să nu sensibilizeze receptorul;
4. să poată fi executat rapid, pe lîngă o mare putere discriminativă;
5. să poată fi aplicat şi la un receptor bolnav;
6. să fie aplicabil la un donator-cadavru.

Metodele de care dispunem astăzi pentru evaluarea histocompatibilității sînt redate în tabelul lui Brent (tabelul XVII, 1).

TABELUL XVII, 1

Metodele de evaluare a histocompatibilității în funcție de criteriile lui Brent

	Capacitate de excludere	Capacitate de selecție	Sensibilitatea receptorului	Timpul de execuție	Aplicabil la receptor ureic	Aplicabil la donator cadavru
Metode globale:						
— Grefe teste (de piele) prealabile:	Da	?	Da	10 zile	?	Nu ?
Testul celui de al 3-lea om:	Da ?	?	Nu	20 zile	Da	Nu ?
— Cultură mixtă de limfocite:	Da	Da	Nu	4–5 zile	?	Da
— Testul hamsterului iradiat:	Da	?	Nu	2 zile	?	Da
— Testul de transfer al limfocitelor normale:	Da	?	Nu	—	?	?
— Proba compatibilității încrucișate între serul receptorului și leucocitele donatorului (test de excludere):	Da	?	Nu	2 ore	Da	Da
Metode analitice. Determinarea grupelor:	Da	Da	Nu	—	Da	Da
— Eritrocite ABO-P_1-P_2				½ oră		
— Tisulare HL-A				2 ore		
— Serice Lp				24 ore		

CONCLUZII

Ultimii 10 ani au revelat problemele de bază ale studiului histocompatibilității. Descoperirea și caracterizarea parțială a antigenelor de histocompatibilitate la animale (sistemul H) și la om (sistemul HL-A) permit o selecționare destul de bună a asocierii receptor-donator pentru transplantare. Totuși, rezultatele viabilității transplantului încă nu concordă complet cu previziunile pe care ni le oferă diferitele teste de histocompatibilitate. Așa se explică de ce crize de rejetare sînt încă foarte frecvente în practica transplantelor.

O reducere a acestui risc a fost introdusă prin medicația imunodepresoare. Trebuie să mărturisim că la ora actuală, nici unul dintre agenții imunodepresori — fizici, chimici, hormonali, biologici — nu asigură o deplină securitate în rezultatele îndepărtate ale supraviețuirii și funcției normale a organului transplantat.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Amos D. B. — Human histocompatibility, *Science*, 1968, 159, 659.
2. Bach F., Hirschhorn K. — Lymphocyte interaction: a potential histocompatibility test *in vitro*, *Science*, 1964, 143, 813.
3. Bozsoky S. — A lymphocyták blastoid transformatioja, *Orvosképzés*, 1969, 44, 49.



4. Brent L., Medawar P. B. — Tissue transplantation: a new approach to the „typing" problem, *Brit. med. J.*, 1963, 2, 269.
5. Brondz B. D. — Aspecte in studiul naturii hipersensibilității de tip intirziat și a fenomenelor legate de ea, *Usp. sovrem. Biol.*, 1965, 59, 257.
6. Colombani J., Dausset J. — L'histocompatibilité humaine *Path. et Biol.*, 1969, 17, 281.
7. Csaba G. — Transplantatios immunutás, Az orvostudomány aktuális problémái, 1968, 2, 163—200.
8. Castermans A. — Étude des antigènes de transplantation. Ed. Arscia-Bruxelles, Ed. Maloine, Paris, 1962.
9. Davies D. A. L., Stone A. J., Viza D. C., Colombani J., Dausset J. — Human transplantation antigens: the HL-A (Hu-1) system and its homology with the mouse H-2 system, *Transplantation*, 1968, 6, 571.
10. Govaerts A. — Les anticorps de transplantation, Ed. Arscia-Bruxelles, Ed. Maloine, Paris, 1964.
11. Hildemann W. H., Haas L. — Comparative studies of homotransplantation in fishes, *J. cell. comp. Physiol.*, 1960, 55, 227.
12. La Via M. F., Rowland D. T., Block M. — Antibody formation in embryos, *Science*, 1963, 140, 1 219.
13. Lunghi J. — Teoria della frequenze di incompatibilita da trapianto, *Atti Ass. Genet. ital.*, 1965, 10, 311.
14. Marinescu V., Păușescu E., Negrea F. — Biologia transplantării țesuturilor și organelor, Ed. medicală, București, 1967.
15. Mathé G., Méry A. M., Amiel J. L., Schwarzenberg L. — Sélection du meilleur donneur pour les greffes et transplantation allogénique chez l'homme, *Rev. franc. Étud. clin. biol.*, 1966, 11, 565.
16. Najarian J. S., Feldman J. D. — Passive transfer of transplantation immunity. I. Tritiated lymphoid cells. II. Lymphoid cells in millipore chambers, *J. exp. Med.*, 1962, 115, 1 083.
17. Newth D. R. — Chance compatibility in homografting, *Transplant. Bull.*, 1961, 27, 452.
18. Nouza K., Benczur M., Petrányi G. jr. — Heterolog antilymphocyta-serum immunosupresiv hatásának elmeleti és klinikai jelentösége, *Orvosképzés*, 1970, 50, 59.
19. Rapaport F. T., Dausset J. — Human transplantation, Ed. Grune și Stratton, New York, 1968.
20. Rood J. van, Leeuven A. van, Schippers A., Ceppellini R., Mattiuz P. L., Curtoni S. — Leukocyte groups and their relation to homotransplantation, *Ann N.Y. Acad. Sci.*, 1966, 129, 467.
21. Serra A., O. Mathama O. — A theoretical approach to the study of histocompatibility in man, *Ann. hum. Genet.*, 1966, 30, 97.
22. Simonsen M. — Strong transplantation antigens, *Lancet*, 1965, I, 415.
23. Terasaki P., Vredovoe D. L., Mickey M. R., Poerter K. A., Marchioro T. L., Faris T. D., Starzl T. E. — Serotyping for homotransplantation. VII. Selection of kidney donors for thirty two recipients, *Ann. N. Y Acad. Sci.*, 1966, 129, 500.
24. Voisin G. A. — Les anticorps „cytophiles" et leur role biologique *Rev. franc. Étud. clin. biol.*, 1967, 12, 433.
25. Walford R. L. — The relation of anti-leukocyte antibodies to the homograft reaction, their occurence in human sera, *Transplantation*, 1958, 5, 55.
26. Woodruff M. F. A., Forman B. — Evidence of production of circulating antibodies by homografts of lymphoid tissue and skin, *Brit. J. exp. Path.*, 1950, 31, 306.
27. Woodruff M. — Les lymphocytes et le sérum antilymphocytaire, *Endeavour*, 1969, 28, 65.

Capitolul al XVIII-lea

TEORIA MOLECULARĂ A NARCOZEI. ASPECTE DE FARMACOGENETICĂ ÎN ANESTEZIE

L. Roman

A. TEORIA MOLECULARĂ A NARCOZEI

Pentru abordarea acestei probleme considerăm că este necesară o prealabilă definire a noţiunii de anestezie.

Anestezia este în primul rînd lipsa de senzaţii dureroase; şi în general de toate senzaţiile. Acesta este conceptul primar, dar mai amănunţit privită, anestezia poate fi disecată în anestezie locală şi anestezie generală. De ce? Fiindcă teoria anesteziei locale este diferită: teoria anesteziei de contact se bazează

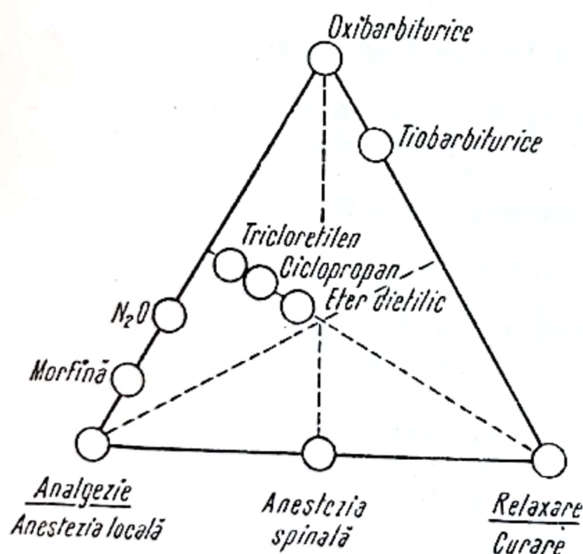


Fig. XVIII, 1. Triunghiul anestezic Young.

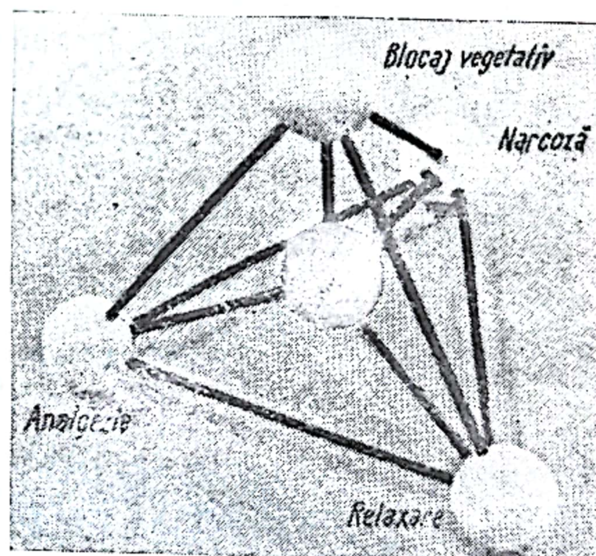


Fig. XVIII, 2. Tetraedrul anestezic.

pe stabilizarea membranei celulare prin acţiunea directă a substanţei anestezice, iar teoria anesteziei generale — de care ne ocupăm — se bazează pe alte date, fiindcă anestezicul nu lucrează pe bază de contact.

Astăzi se ştie că anestezia generală este o reorganizare funcţională a sistemului nervos, care variază de la o formă superficială la una profundă,

putînd fi obținută în mod reglabil, gradat și reversibil prin administrarea unor substanțe de mare diversitate chimică și fizică.

Această anestezie generală se compune de fapt din trei elemente de bază: narcoza, analgezia și relaxarea musculară, ceea ce a permis lui T. M. Young, în 1957 (16), să o reprezinte sub forma unui triunghi, în vîrfurile căruia sînt elemente de bază, iar pe aria lui, în funcție de preponderența efectelor, diversele substanțe utilizate (fig. XVIII, 1).

Este evident că fiecare dintre cele trei componente poate fi exacerbată în dauna celorlalte. Teoretic, toate trei ar trebui să fie egale, dar studiile moderne au arătat că:

— este preferabil să accentuăm analgezia, hipnoza să fie superficială (deci trezire rapidă), iar relaxarea să fie obținută la cerere;

— pe lîngă cele trei componente menționate, este de o mare importanță acțiunea anesteziei pe sistemul nervos vegetativ, mai precis pe sistemul simpatic, prin care se obține stabilitatea vegetativă, deci acțiunea antișoc.

Astfel, anestezia actuală reclamă patru componente de bază, pentru care sugerăm reprezentarea sub forma unui tetraedru regulat, în vîrfurile căruia sînt plasate hipnoza, analgezia, relaxarea și blocajul vegetativ. Teoretic, anestezia ideală este cea care obține întîlnirea celor patru componente în centrul acestei piramide. Anestezicul ideal — care nu există — ar fi acea substanță, care ar produce cele patru efecte în mod echilibrat (fig. XVIII, 2).

*

Pentru a explica mecanismul narcozei, s-au elaborat un număr considerabil de teorii (prezentăm tabelul cronologic al „teoriilor narcozei“, care ne confirmă aceasta).

TABELUL XVIII, 1

Teoriile narcozei
(întocmit după N. du Bouchet)

1875	Cl. Bernard	— Semicoagularea reversibilă a protoplasmei
1882	R. Dubois	— Deshidratarea protoplasmei
1899	C. Richet	— Insolubilitatea relativă a anestezicelor în apă; solubilitatea în grăsimi
1899	Overton și	— Teoria lipoidică a narcozei; rolul coeficientului de partaj
1901	Meyer	
1913	Traube	— Rolul scăderii tensiunii superficiale
	Warburg	— Adsorbție și inhibiție fizico-chimică
	Heilbronn, Ennecke	— Creșterea viscozității protoplasmei
1939	Ferguson	— Rolul coeficientului de activitate termodinamică
	Ostergreen	— Precipitarea lanțurilor lipofile ale proteinelor
	Quastel	— Perturbarea respirației celulare prin inhibiție enzimatică
1951	Schneider	— Teoria dinamică a narcozei
1961	L. Pauling și	— Teoria moleculară cristalografică
1966	D. Kupfer-Tsoucaris	

Vom examina foarte succint principalele teorii, urmînd să discutăm în detaliu teoria lui L. Pauling, care formează de fapt obiectul expunerii.

Cl. Bernard, frapat de similitudinea efectelor esențiale ale diverselor substanțe anestezice, afirmă că „dacă există mai multe anestezice, nu există în

schimb decît o singură anestezie" (cit. 1). El a observat pe mușchii și nervii scufundați într-o soluție anestezică un aspect opalescent și de aceea a apreciat că semicoagularea poate să corespundă anesteziei protoplasmatice reversibile. El nu a putut merge mai departe cu analiza detaliată a fenomenului și teoria a rămas chiar pentru el o ipoteză.

Ideea a fost reluată mai tîrziu de Handowscki, care admite că semicoagularea poate afecta fie faza proteică, fie faza lipidică a protoplasmei.

Teoria lipoidică a fost prezentată de Meyer în 3 fraze:

1. Orice substanță chimică care este solubilă în grăsime produce narcoză.
2. Acțiunea narcotică se manifestă în mod deosebit pe celulele bogate în lipide.
3. Puterea narcotică depinde de un coeficient care determină partajul anestezicului între apă și substanțe grase.

Însă liposolubilitatea este numai un detaliu al unui mecanism complex.

Teoriile variației tensiunii superficiale, a absorbției, reprezintă epifenomene și nu cauza esențială a fenomenului.

Un al doilea grup de teorii se ocupă cu efectele reacțiilor enzimatice din metabolismul oxidativ, din care amintim teoria lui Quastel, care arată importanța inhibiției anumitor enzime respiratorii în timpul narcozei, mai ales a sistemului flavo-proteină-citocrom B. Este o teorie seducătoare, dar bazată pe date sărace.

În sfîrșit, o tentativă recentă și spectaculară de corelare a efectelor anestezice cu proprietățile fizice ale anestezicelor a fost făcută de L. Pauling. Elaborată în 1959 și publicată în 1961 (11), ea a fost rodul dezvoltării chimiei structurale, care a determinat pe de o parte cunoașterea structurii umane, iar pe de altă parte explicarea fenomenelor fiziologice cu ajutorul termenilor moleculari și al interacțiunii moleculare.

L. Pauling formulează această teorie plecînd de la următoarele date referitoare la starea de cunoștință:

Sistemul nervos dispune de două feluri de memorie, după Mc. Culloch (1948) (cit. 11):

— o memorie reflectată, efemeră;
— o memorie înmagazinată, permanentă.

După Jeffres (cit. 11), starea de cunoștință, ca și memoria efemeră implică oscilații electrice în creier, în timp ce memoria permanentă implică o înregistrare materială, în parte moștenită de organism, iar în parte transferată celulei nervoase de la modelul electric al memoriei efemere. Oscilațiile care se manifestă de o manieră grosieră pe traseul E.E.G. depind de starea de cunoștiență și de activitatea encefalică a substratului, adică de mecanismul stimulant și de mediul material în care se propagă. Mediul material este creierul cu celulele de susținere sau nevrogliile, celulele specializate sau neuronii și conexiunile dintre neuroni sau sinapse.

Energia medie a oscilațiilor electrice este determinată de: activitatea mecanismului excitator, pe de o parte, și de rezistența rețelei nervoase, pe de altă parte.

O pierdere de cunoștință, ca cea care survine în timpul somnului sau în timpul narcozei, este rezultatul fie al unei diminuări a activității mecanis-

mului stimulant, fie al unei creşteri a impedanţei reţelei de conductori, fie al acţiunii conjugate a acestor doi factori.

Prin urmare, aici trebuie căutat locul şi mecanismul de acţiune a substanţei anestezice.

Teoria moleculară, biocristalografică, a fost enunţată ca fiind valabilă pentru un grup de substanţe numite „anestezice fizice neformatoare de legături de hidrogen", dintre care cităm:

Argonul	Ar
Xenonul	Xe
Azotul	N≡N
Protoxidul de azot	N≡N– – – –O
Anhidrida carbonică	O=C=O
Cloroformul	H, Cl, Cl, Cl legaţi de C
Etilena	H₂C=CH₂ (H, H / C=C / H, H)
Fluotanul	F–C(F)(F)–C(Br)(H)–Cl
Ciclopropanul	H–C(H)– – –C(H)–H, ambii legaţi de C(H)(H)

Ea admite că aceste substanţe au proprietatea comună de a forma monocristale hidratate în mod special în regiunile sinaptice ale creierului, perturbînd astfel transmiterea influxului nervos.

Deci, caracteristic pentru substanţele anestezice este aptitudinea de a forma hidraţi, iar acţiunea narcotică este consecinţa configuraţiei cristaline.

Explicarea formării hidratcristalelor a fost dată în 1948 de H. M. Powell (10, 11), prin demonstrarea existenţei unei reţele de legături de hidrogen, care delimitează spaţii goale ce sînt ocupate de moleculele altei substanţe, de unde şi numele de clatraţi. Stabilitatea acestor cristale se datoreşte legăturilor de hidrogen şi forţelor Van der Waals. Legătura de hidrogen a moleculelor de apă este întrucîtva similară cu cea din gheaţa ordinară, cu diferenţa că ele delimitează cavităţi mai mari, în care pot fi cuprinse alte molecule.

În figurile ce urmează sînt reprezentaţi:

— hidratul cristalin de Xenon, care este un dodecaedru pentagonal (fig. XVIII, 3);

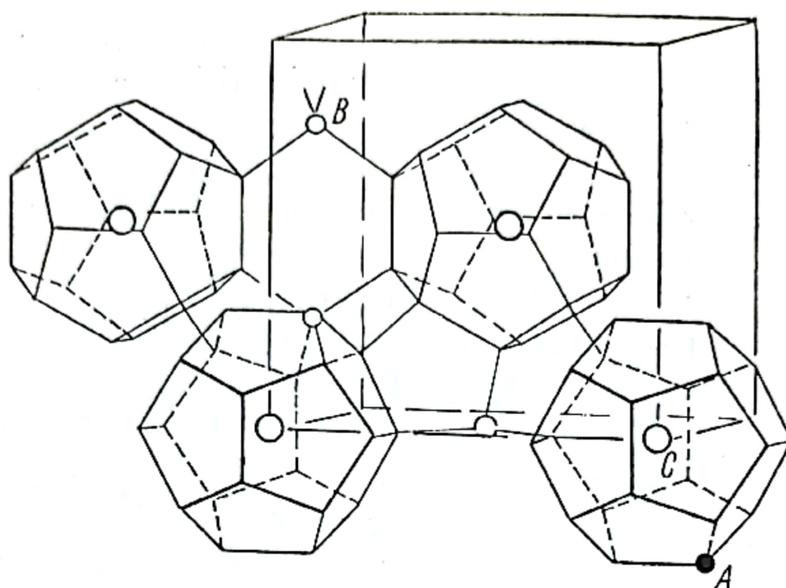


Fig. XVIII, 3. Structura hidratului cristalin de Xenon. Sînt reprezentate moleculele de apă ce formează dodecaedrul pentagonal (*A*) şi cele ce asigură legătura dintre acestea (*B*). Atomii de Xenon sînt plasaţi în centrul fiecărui dodecaedru (*C*) (*după Kupfer*).

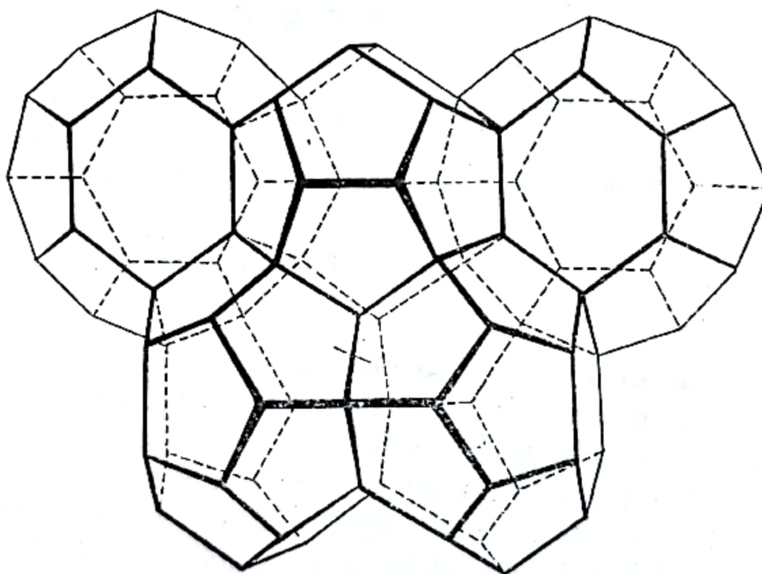


Fig. XVIII, 4. Structura tetradecaedrului. Alături de un dodecaedru în centru — sînt reprezentate două tetradecaedre; această formă cristalină este stabilizată de molecule mai mari decît cele de Xenon (*după Pauling*).

— tetradecaedrul (cristal cu 14 feţe), care delimitează o cavitate mai mare, ce poate fi ocupată de molecule mai mari (clor, brom) (fig. XVIII, 4);

— hexacaidecaedrul, o structură care poate găzdui molecule și mai mari, ca cea de cloroform (fig. XVIII, 5).

Aceste forme se asociază. Dacă spațiile delimitate de moleculele de apă sînt ocupate de 2 substanțe diferite, stabilitatea termică a hidratcristalului crește. De exemplu, hidratul de cloroform se descompune în apă și cloroform lichid la 2°. Temperatura de descompunere este ridicată la 14,7° prin ocuparea dodecaedrelor alăturate de molecule de xenon.

O creștere similară cu 5—20° în temperatura de descompunere a hidratcristalelor de cloroform, fluotan (P. Van der Heem) (5) se obține folosind ca agent stabilizator hidrogenul sulfurat. Această stabilizare se datorește forțelor Van der Waals.

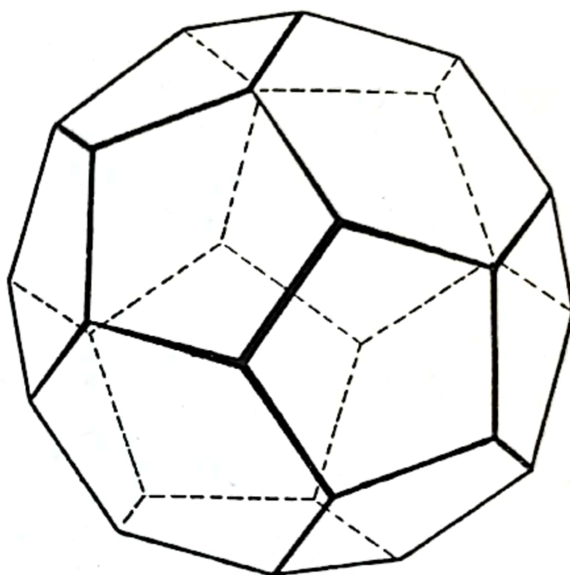


Fig. XVIII, 5. Structura hexacaidecaedrului (după Pauling).

Apa joacă deci un rol fundamental în acest fenomen, căci ea participă, împreună cu moleculele de gaz, la formarea acestor hidrați moleculari sau cristalhidrați, datorită faptului că moleculele acestui lichid se asociază, adică se unesc între ele prin forțe de atracție slabe; această asociere se datorește formării unor legături de un tip special între molecule, prin intermediul atomilor de hidrogen (fig. XVIII, 6).

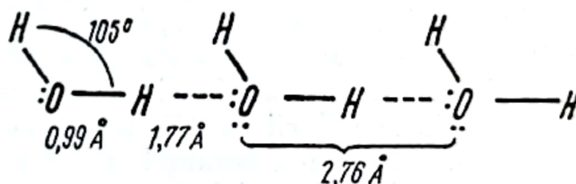


Fig. XVIII, 6. Asocierea moleculelor apei prin legături de hidrogen.

Energia legăturii de hidrogen, de 4,5 kcal/mol, este mult mai mică decît energia legăturii covalente dintre oxigen și hidrogen, care are o valoare de 100 kcal/mol.

Aranjarea spațială a moleculelor de apă — datorită legăturilor de hidrogen — și stabilită de L. Pauling cu ajutorul spectrelor de raze Röntgen ale cristalelor de gheață reprezintă o structură foarte afînată. Fiecare moleculă este înconjurată de alte patru (număr de coordinație 4), orientate după vîrfurile unui tetraedru regulat (fig. XVIII, 7). Această construcție tetraedrică regulată a apei este stabilă numai la temperatură foarte joasă (—183°), în care toate moleculele sînt unite prin legături de hidrogen; la o temperatură mai înaltă, o parte din legături se desfac din cauza mișcărilor termice ale moleculelor. Se apreciază că în apropierea punctului de topire sînt desfăcute 15% iar la 40° aproape jumătate; la trecerea în stare de vapori sînt desfăcute toate legăturile de hidrogen.

În figura XVIII, 8 avem notate în partea stîngă molecule ce pot forma cristalhidrați, iar în partea dreaptă, sînt notate aceleași grupări nepolare, în componența unor acizi aminați.

Transpunînd aceste date în mediul biologic, putem considera că grupe hidrofobe (ca — SH, sau R—CH_3) induc o stabilizare a moleculelor de apă din vecinătate, provocînd o organizare cristalină; putem astfel concepe că porţiuni reactive ale moleculei proteice înconjurate de un mediu rigid de molecule de apă sînt sustrase şi nu mai pot participa la reacţiile metabolice.

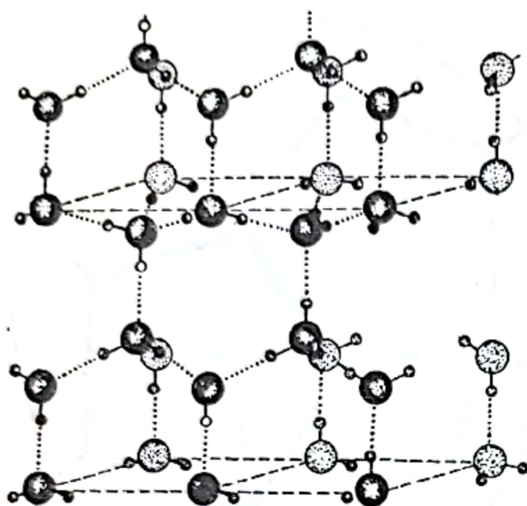
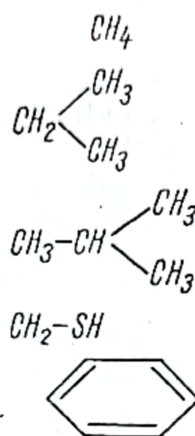


Fig. XVIII, 7. Aranjarea moleculelor de apă în cristalul de gheaţă *(după Pauling)*.



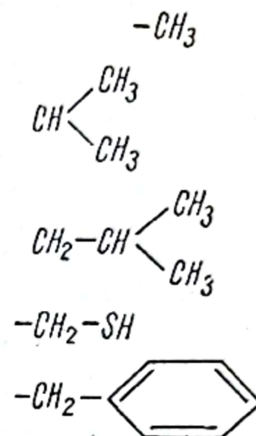


Fig. XVIII, 8. Molecule formatoare de cristalhidraţi în componenţa unor acizi aminaţi.

Aceste date constituie premisele teoriei lui L. Pauling, din care cităm: „structura hidratului cristalin de alkilamoniu are o structură asemănătoare cu a hidratului de xenon; aceşti cristalhidraţi se descompun (se topesc) în jurul a 25°. Conţin camere dodecaedrice ce pot fi ocupate de molecule de xenon, care îi vor putea stabiliza în aşa măsură, încît temperatura de descompunere creşte în jurul valorii de 37°, temperatura corpului omenesc. Ionii de alkilamoniu se aseamănă cu substanţele ce sînt în mod normal în creier, în aminoacizi. Astfel, aceşti aminoacizi formează microcristalihidraţi, atunci cînd creierul este răcit sau se formează la temperatură normală prin încorporarea agenţilor anestezici. Aceste microcristale interferează cu mişcarea ionilor sau cu sarcinile electrice ale lanţurilor laterale ale proteinelor care contribuie în mod normal la oscilaţiile electrice pe care le comportă starea de cunoştienţă şi memoria efemeră, reducînd amplitudinea lor suficient, pentru a produce pierderea cunoştinţei sau au acest efect prin interferarea unor reacţii chimice implicate în oscilaţia electrică, prin blocarea regiunii active a moleculei enzimei".

Dezvoltînd şi generalizînd teoria moleculară, D. Kupfer — D. Tsoucaris şi G. Tsoucaris (7, 8) afirmă că şi anestezicele care formează legături de hidrogen pot perturba structura mediului apos din proximitatea grupării active a enzimei, printr-un mecanism dublu, în care intervin pe rînd grupările polare şi grupările nepolare (fig. XVIII, 9).

O serie de fapte experimentale se corelează cu această afirmaţie:

1. Toate anestezicele formatoare de legături de hidrogen au una sau mai multe grupări nepolare, deci pot acţiona drept *agenţi stabilizatori* în formarea

microcristalelor. Prin suprimarea acestor grupări nepolare se abolește activitatea anestezică.

2. Barbituricele asimetrice (RR_1) au în general o acțiune superioară față de corespondenții simetrici, căci prezența a două grupări nepolare diferite stabilizează structura apei. Acest fapt concordă cu efectul sinergic dat de asocierea a două anestezice și cu faptul că hidrații ce conțin molecule diferite sînt mai stabili decît hidrații fiecărei molecule în parte.

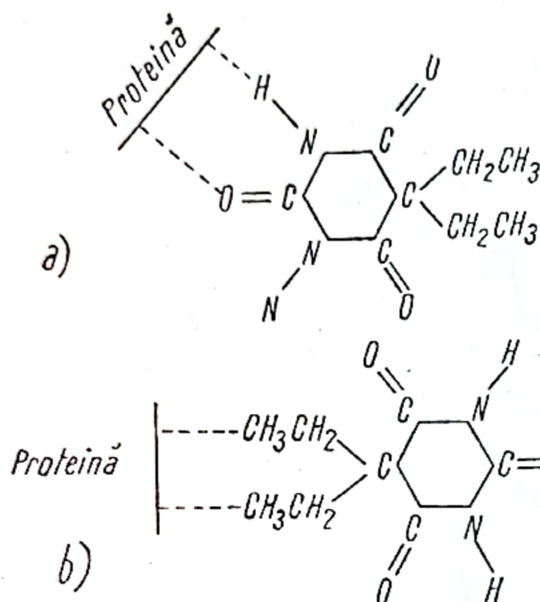


Fig. XVIII, 9. Posibilități de reacție a barbituricelor *(după Kupfer-Tsucaris)*.

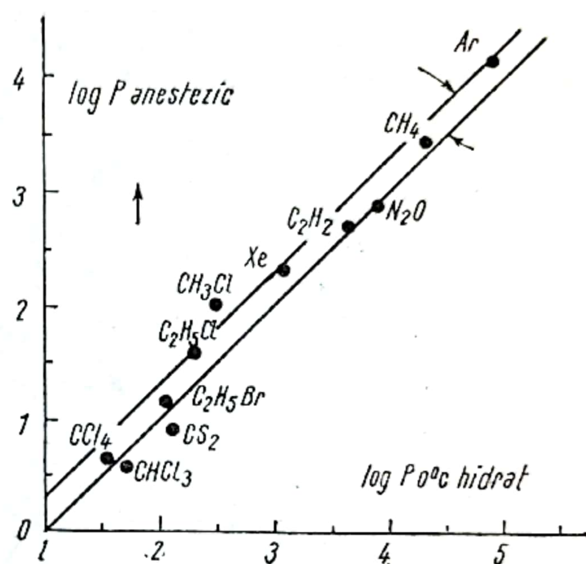


Fig. XVIII, 10. Diagrama logaritmică a presiunii parțiale anestezice și a presiunii parțiale de echilibru a hidratcriștalelor *(după Pauling)*.

Prin urmare, structura apei, care reprezintă aproximativ 78% din compoziția creierului, este modificată de prezența substanțelor anestezice neformatoare de legături de hidrogen (L. Pauling) și de a celor formatoare de legături de hidrogen, dar care au în compoziție grupări nepolare (D. Kupfer) în cristale de hidrați, care sînt stabili la temperatura de 37° prin intervenția agenților stabilizatori reprezentați de lanțurile laterale ale proteinelor și de ionii și moleculele dizolvate în lichidul encefalic. În acest fel, libertatea de mișcare a acestor ioni și molecule și deci participarea lor la oscilațiile electrice sînt modificate. Acest fapt poate avea mai multe consecințe:

1. Rezistivitatea mediului celular este considerabil crescută, în special în regiunile sinaptice, în urma formării de microcristale;

2. Activitatea catalitică a enzimelor poate fi redusă în vecinătatea acestor microcristale;

3. În sfîrșit, mai multe reacții chimice sînt împiedicate datorită faptului că anumite molecule sau ioni sînt reținuți în interiorul cavităților clatraților și sînt astfel sustrași mediului reacțional. Rezultă deci o scădere a nivelului electric pînă la acela care caracterizează anestezia.

Eliminarea progresivă a anestezicului la sfîrşitul operaţiei antrenează o scădere a presiunii parţiale, deci solvarea microscristalelor, restabilirea propagării normale a influxului nervos şi revenirea stării de cunoştinţă.

În sprijinul acestei explicaţii L. Pauling dă următoarele argumente (fig. XVIII, 10):

— Există o corelaţie frapantă între presiunea parţială anestezică şi presiunea de formare a cristalelor de hidraţi. Din grafic vedem că stabilitatea

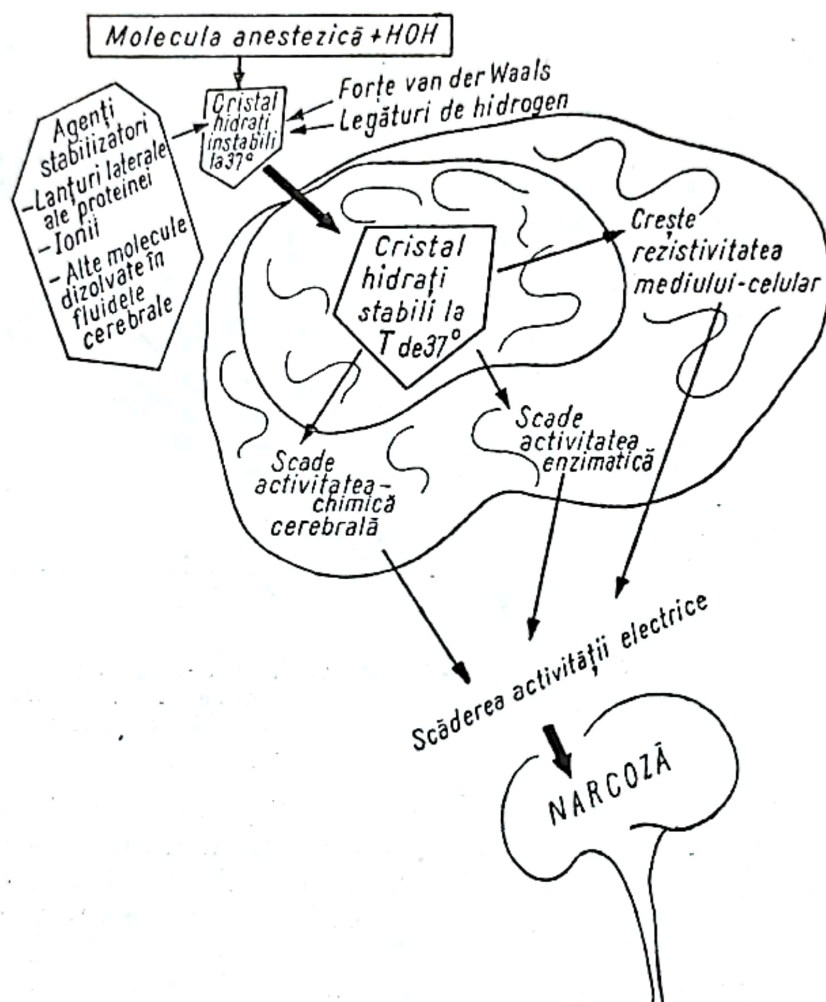


Fig. XVIII, 11. Reprezentarea schematică a teoriei moleculare a narcozei.

cristalelor de hidraţi, exprimată prin log, presiunii de apă, este proporţională cu activitatea anestezică, exprimată prin log. presiunii de gaz necesară anesteziei.

— În teoria moleculară, contrar teoriei lipidice, intervine numai faza apoasă, care conţine ionii şi proteinele ce au lanţurile laterale încărcate electric; acestea sînt implicate în oscilaţiile electrice care caracterizează starea de conştienţă.

— Există o corelaţie între anumite proprietăţi fizice ale acestor hidraţi şi anumite constatări clinice:

a) pe plan fizic: stabilitatea hidraţilor creşte atunci cînd temperatura este scăzută;

b) pe plan clinic: hibernarea artificială poate să ducă la o pierdere de cunoştinţă, datorită formării hidraţilor în urma scăderii temperaturii.

Pe plan fizic, două substanţe anestezice pot coopera pentru a creşte stabilitatea unui hidrat, iar pe plan clinic, se ştie că folosirea simultană a două anestezice potenţează efectul lor (calitatea somnului anestezic este crescută) (fig. XVIII, 11).

În concluzie, teoria moleculară cristalografică a narcozei [care admite că molecula anestezică, în contact cu apa, datorită legăturilor de hidrogen şi forţelor Van der Waals şi prezenţei agenţilor stabilizatori (ioni, molecule, lanţuri laterale ale proteinelor) formează cristalhidraţi stabili la 37°, care produc o scădere a activităţii electrice printr-un triplu mecanism şi deci narcoză] are originalitatea de a fi unit concepţiei biologice, şi cristalografice şi prin aceasta de a arăta locul din ce în ce mai mare, pe care biologia moleculară îl are în ştiinţa modernă.

B. ASPECTE DE FARMACOGENETICĂ ÎN ANESTEZIE

Farmacogenetica este o preocupare relativ recentă. Ea se ocupă cu modificările ereditare ale răspunsului organismului la administrarea convenţională a unui drog convenţional. Sfera farmacogeneticii este mare, pentru că toate formele vieţii sînt expuse la variaţii genetice şi sînt capabile să răspundă la droguri sau substanţe chimice.

În această expunere dorim să reamintim principalele anomalii ale reacţiei individuale de origine genetică faţă de cîteva substanţe folosite în anestezie.

VARIABILITATEA COLINESTERAZEI

Există două enzime distincte:

1. Colinesteraza adevărată (colinesteraza specifică, acetilcolinesterază), care se găseşte în hematii şi în ţesutul nervos, avînd rolul de inactivare a acetilcolinei.

2. Pseudocolinesteraza (serică, nespecifică, acilcolinacilhidrolază), care se găseşte în plasmă şi ţesuturi (în afară de cel nervos). Sintetizată în ficat, nu i se cunoaşte adevăratul rol fiziologic şi absenţa ei totală este compatibilă cu viaţa. Lehmann şi Liddell (1962, cit. 6) sugerează că ea hidrolizează acetilcolina atunci cînd concentraţia ei atinge un asemenea nivel încît inhibează colinesteraza, care are o concentraţie de substrat optimă.

Importanţa pseudocolinesterazei este farmacologică şi rezidă în faptul că ea hidrolizează două grupuri de medicamente care au o utilizare largă în anestezie:

1. Succinilcolina (succinilester de colină);
2. Procaina (ester al acidului benzoic).

Succinilcolina este o curară acetilcolinomimetică care produce un blocaj prin depolarizarea joncţiunii mioneurale; durata ei este limitată la 3—5 minute, deoarece este hidrolizată de pseudocolinesterază.

Amintim că succinilcolina este utilizată larg în anestezie, practic de fiecare dată cînd se efectuează intubaţia traheală. Se obţine o paralizie a musculaturii striate cu apnee, care facilitează intubaţia; bolnavul este ventilat 3—5 minute, după care îşi reia respiraţia spontană.

Uneori se întîlnesc răspunsuri aberante de „apnee prelungită" după succinilcolină. Această paralizie se explică prin defecte calitative (genetice) sau cantitative (cîştigate) ale pseudocolinesterazei. În aceste cazuri, succinilcolina nu mai este hidrolizată şi se instalează o paralizie musculară cu apnee anormal prelungită.

Enzima atipică diferă de cea uzuală prin următoarele:

— ea este mai puţin activă în procesul de hidroliză a unui număr mare de substraturi, inclusiv succinilcolina;

— ea este mai rezistentă decît enzima uzuală la inhibitorii de colinesterază.

Pentru a putea efectua clinic diferenţierea indivizilor cu enzimă tipică de cei cu enzimă atipică se foloseşte testul de inhibiţie, utilizînd ca inhibitori două substanţe: dibucaina şi fluorura de sodiu.

Procentele de inhibiţie reprezintă numărul de dibucaină (DN) şi numărul de fluor (FN).

Pe baza numărului de dibucaină, Kallow şi Staron împart populaţia în trei grupe:

DN	Genetica	Frecvenţa (%)
80	Homozigoţi normali	97
62	Heterozigoţi	3
20	Homozigoţi atipici	0,03

Nu toate cazurile au putut fi clasate cu ajutorul DN. Folosind ca inhibitor fluorura de sodiu, s-a găsit un alt tip de pseudocolinesterază moştenită. În sfîrşit, sînt familii fără activitate colinesterazică.

S-a stabilit astfel că există patru gene-alele care controlează transmiterea ereditară a pseudocolinesterazei, pentru care, la al V-lea Simpozion internaţional de genetică, din 1963, s-a propus următoarea terminologie (fig. XVIII, 12):

E_1^U —pentru gena responsabilă de formarea colinesterazei normale, uzuale.

E_1^a — pentru gena responsabilă de formarea colinesterazei atipice.

E_1^f — pentru gena responsabilă de formarea colinesterazei rezistente la inhibiţia fluorului.

E_1^S — pentru gena responsabilă de absenţa enzimei.

Ele vor putea da naştere la patru homozigoţi şi la 16 heterozigoţi, cu următorul genotip (fig. XVIII, 12):

Cele subliniate prezintă riscul de apnee prelungită la administrarea de succinilcolină; în practică, acesta este un risc foarte mare.

Incidența și distribuția ereditară a variantelor de pseudocolinesterază este prezentată în figura XVIII, 13.

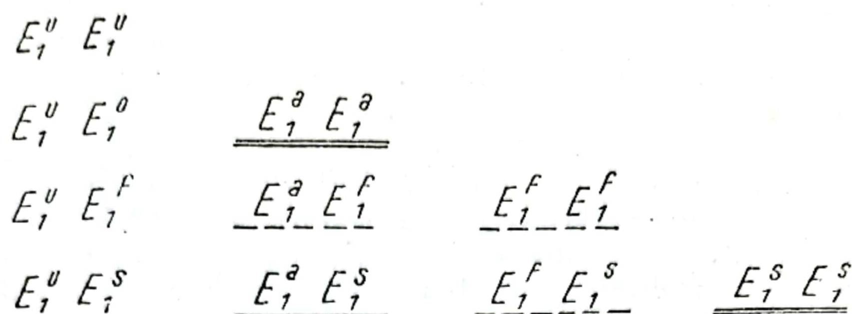


Fig. XVIII, 12. Genotipul pseudocolinesterazei *(după Kalow).*

INCIDENȚA ȘI REPARTIȚIA VARIANTELOR EREDITARE DE PSEUDOCOLINESTERAZĂ

Genotip	Fenotip	Incidența	Enzima	Răspuns la succinilcolină	D. N. (normal 80)	F. N. (normal 60)
Homozigoți						
$E_1^u\ E_1^u$	*U*	1 : 1	Uzuală	*N*	80	60
$E_1^a\ E_1^a$	*A*	1 : 2 500	Atipică	++++	20	20
$E_1^s\ E_1^s$	*S*	1 : 100 000	Fără activitate	++++	—	—
$E_1^f\ E_1^f$	*F*	Foarte rar		++	70	30
Heterozigoți						
$E_1^u\ E_1^a$	*I*	1 : 25	Amestec	+	60	45
$E_1^u\ E_1^f$	*UF*	—	Amestec	+	75	50
$E_1^a\ E_1^f$	*IF*	—	Amestec	++	45	35
$E^u\ E_1^s$	*U*	1 : 200	Uzuală Activitate scăzută	+	80	60
$E_1^a\ E_1^s$	*A*	1 : 8 000	Atipică	++++	20	20
$E_1^f\ E_1^s$	*F*	—	Neîntîlnită	—	—	—

Fig. XVIII, 13. Incidența și repartiția variantelor de pseudocolinesterază *(după Leacock, citat de Kalow).*

În ceea ce privește heterozigoții, pentru esteraza atipică (fenotip $E_1^U\ E_1^a$), frecvența la diverse populații este:

TABELUL XVIII, 2

Populația	Nr. cazuri cercetate	Nr. heterozigoți	Proporție %
Canadieni	2 017	74	3,8
Britanici	703	24	3,8
Germani	118	4	3,4
Cehoslovaci	87	7	8,5
Greci	360	13	3,6

Importanța clinică a genotipului de colinesterază rezidă în faptul că două droguri cu utilizare clinică foarte largă sînt distruse de colinesterază: acestea sînt procaina și succinilcolina. În prezența esterazei atipice, hidroliza ambelor medicamente este întîrziată. Cu toate acestea, frecvența accidentelor fatale este mult mai mare pentru succinilcolină. Motivul principal pare să fie utilizarea clinică diferită a acestor două droguri:

— procaina este obișnuit injectată în țesuturi în locul în care dorim să obținem acțiunea. Deoarece cel mai eficient mijloc de a-i prelungi acțiunea este adiționarea de vasoconstrictoare, este evident că absorbția locală influențează durata de acțiune mult mai decisiv, decît conversiunea metabolică; chiar un ritm lent de metabolizare poate fi adecvat atît timp, cît drogul pătrunde în sînge într-un ritm lent;

— prin contrast, succinilcolina este injectată intravenos. Cea mai mare parte din cantitatea injectată, adică 90—95%, este distrusă într-un interval de 1 minut după injecție (6). Prin urmare, numai o fracțiune din doză ajunge la placa neuromusculară unde drogul acționează și de unde treptat se risipește în mediul ambiant. Dacă există o insuficiență de activitate esterazică, joncțiunea neuromusculară va fi inundată cu molecule de succinilcolină.

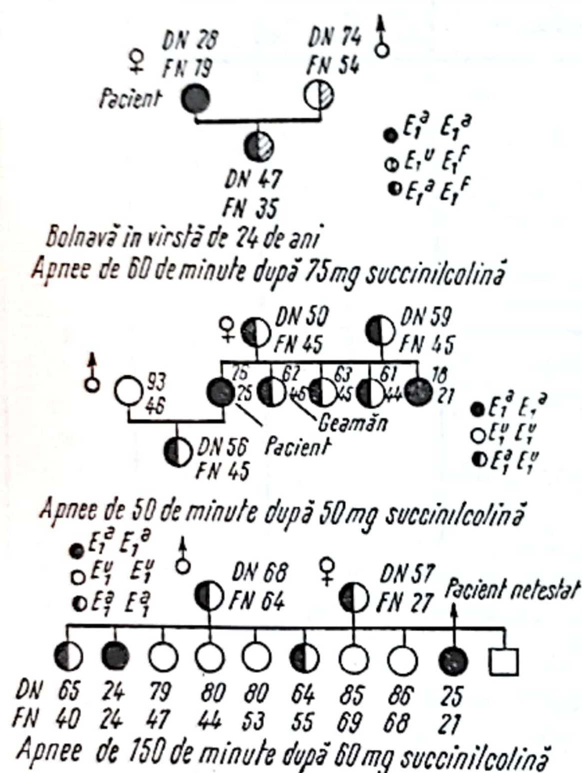


Fig. XVIII, 14. Arborele genealogic al unor bolnavi cu apnee prelungită după succinilcolină (după Mone, Mathie).

Dispersia acestei concentrații mari de la nivelul plăcii neuromusculare cere timp și aceasta explică efectul prelungit. Pentru persoanele cu esterază atipică (genotip E_1^a E_1^a) s-a stabilit curba doză-efect pentru succinilcolină.

După 100 mg, apneea completă durează între 50 și 65 de minute; o perioadă dublă sau triplă trece pînă ce respirația spontană este adecvată.

Faptul că procaina și succinilcolina sînt hidrolizate de aceeași enzimă, explică potențarea reciprocă: procaina este hidrolizată de pseudocolinesterază preferențial față de succinilcolină.

Pentru exemplificare vom prezenta arborele genealogic al unor bolnavi care au prezentat apnee prelungită după administrare de succinilcolină (fig. XVIII, 14).

Reducerea cantitativă a pseudocolinesterazei care se întîlnește după compuși organofosforici (Thio-Tepa, diizopropil-fluorofosfat) și în insuficiențe hepatice este semnificativă și poate fi cauza unor apnei prelungite (fig. XVIII, 15).

Tratamentul apneei prelungite, cauzate de succinilcolină, este bine codificat şi reclamă:

1. controlul ventilaţiei cu amestec de protoxid de azot + oxigen (Wickers, Churchill-Davidson, Katz) (cit. Mone), urmărind menţinerea în limite normale a pH-ului şi a PCO_2;

2. aport enzimatic prin administrarea de plasmă dublu concentrată, care aduce o cantitate mai mare de enzimă fără aportul excesiv de apă. Sîngele conservat păstrează 80% din activitatea pseudocolinesterazei după 25 de zile de conservare la 6°, iar plasma uscată resuspendată între 40 şi 70%.

Valoarea creşterii nivelului enzimatic în scurtarea perioadei de apnee, o dată instalată, este controversată. Unii autori consideră că instituirea transfuziei înainte de succinilcolină la bolnavii cu risc va scurta apneea, dar instituirea în timpul apneei nu are efect. Alţii atribuie o valoare transfuziei de sînge sau plasmă, prin ameliorarea fluxului sanguin muscular.

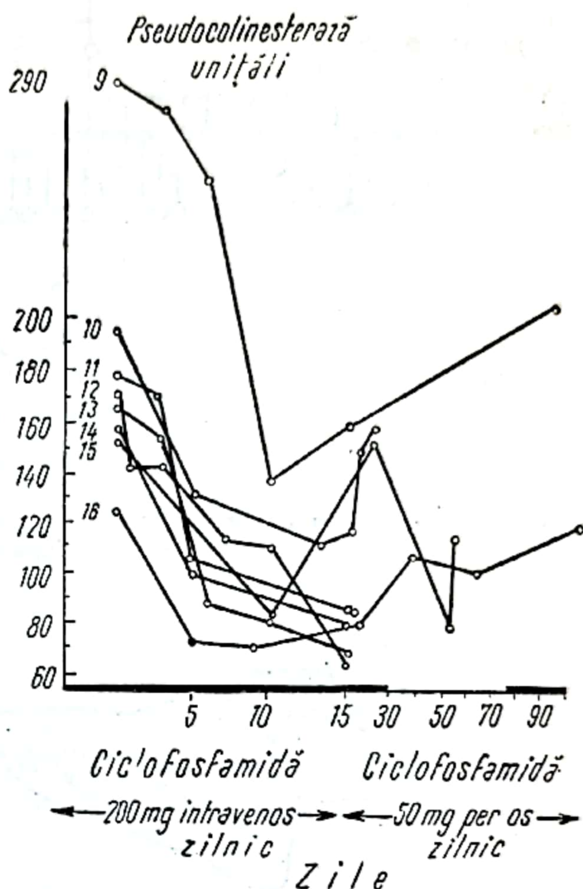


Fig. XVIII, 15. Scăderea pseudocolinesterazei după tratament cu ciclofosfamidă *(după Mone, Mathie).*

HIPERTERMIA — REACŢIE FAMILIALĂ LA ANESTEZICE GENERALE

În 1962, M. A. Denborough şi colab. (3) au comunicat apariţia unei hipertermii, urmată de deces, în urma unei anestezii generale la mai mulţi din membrii unei familii. Ei insistă asupra faptului că operaţiile au fost minore şi că s-au terminat bine; de asemenea nu a existat un supradozaj în cursul anesteziei, subliniind că din 38 de rude care au avut o anestezie generală, 10 au decedat într-un tablou convulsiv şi cu hipertermie.

În 1969, Thomford (14) analizează un caz personal şi altele 11 culese din literatură. În fiecare din aceste cazuri hipertermia acută nu a putut fi atribuită tireotoxicozei, septicemiei sau substanţelor pirogene, factorilor de mediu sau altor cauze de febră la bolnavii chirurgicali. Fiziopatologia acestor accidente familiale este necunoscută, dar combinaţia dintre hiperpirexie şi contracţie musculară toracică sugerează o tulburare genetică subclinică a sistemului neuromuscular.

Am amintit acest sindrom pentru a sublinia importanţa cunoaşterii antecedentelor familiale înainte de orice anestezie (fig. XVIII, 16).

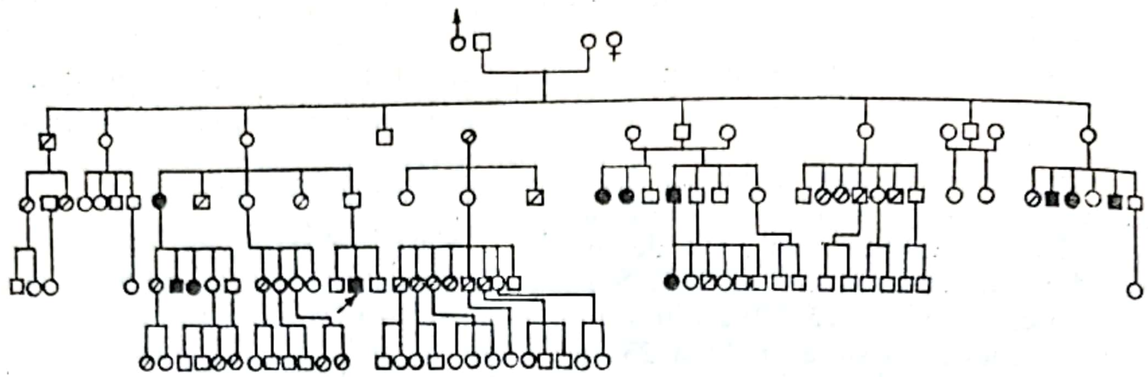


Fig. XVIII, 16. Arborele genealogic al unei familii în care au survenit decese prin hipertermie după anestezie.

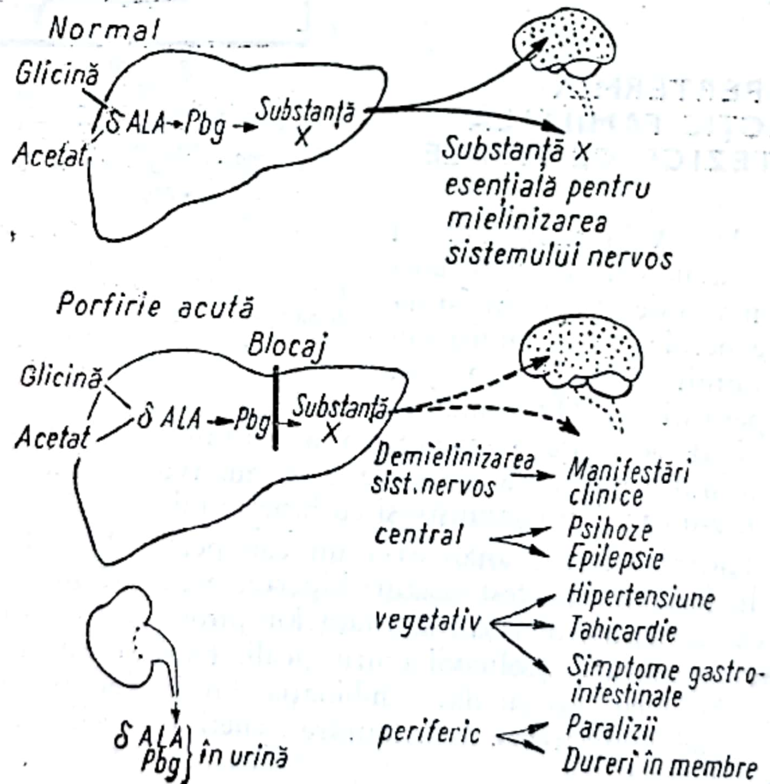


Fig. XVIII, 17. Patogeneza porfiriei acute (după Goldberg, citat de Kalow).

Deşi riscul administrării barbituricelor la bolnavii de porfirie este cunoscut, totuşi, au fost înregistrate cazuri fatale. Există mai multe forme de porfirie. Afecţiunea importantă în acest context este *porfiria acută intermitentă*.

În patogeneza acestei boli apare un blocaj enzimatic hepatic în reacţia de transformare a porfobilinogenului în substanţa X esenţială în procesul de mielinizare a sistemului nervos (fig. XVIII, 17).

Leziunile de demielinizare pot interesa sistemul nervos central, sistemul nervos vegetativ sau nervii periferici.

Afectarea sistemului nervos central provoacă psihoze, a celui vegetativ un sindrom abdominal acut dureros, care poate decide în lipsa diagnosticului o explorare chirurgicală, iar afectarea sistemului nervos periferic provoacă pareze şi tulburări de sensibilitate (fig. XVIII, 18).

Diagnosticul se stabileşte prin prezenţa porfobilinogenului în urină.

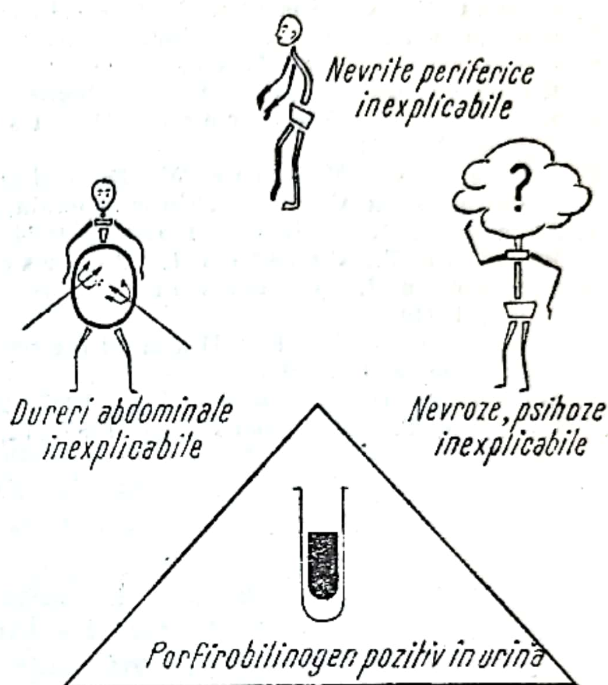


Fig. XVIII, 18. Schema de diagnostic a porfiriei acute *(după Goldberg, citat de Kalow).*

Incidenţa bolii la bolnavii chirurgicali este, după Ward (cit. 6) de 1,5 la 100 000 în Suedia, 1 la 100 în Africa. La 16 000 operaţi, Petrila şi colab. (2) au avut 3 cazuri. Pe o statistică din literatură, Dundee şi Ridin au găsit pe o perioadă de 5 ani, 32 de bolnavi de porfirie, din care 5 au murit pe masa de operaţie.

Bolnavul poate fi asimptomatic mulţi ani, uneori toată viaţa. Manifestarea clinică poate să apară oricînd. Ea poate fi însă declanşată atunci cînd se administrează barbiturice, astfel că un bolnav aparent cu o stare generală bună se poate afla brusc în pericol de moarte datorită unei anestezii, în timpul căreia i se administrează barbiturice. Paraliziile induse în acest mod duc la insuficienţă respiratorie. Criza de porfirie mai poate fi declanşată de analgeticele din grupul acetanilidei şi de sulfamide.

Examenul clinic şi de laborator şi o anamneză riguroasă personală şi familială, înainte de o anestezie generală, sînt elemente obligatorii.

Desigur că şi alte aspecte de farmacogenetică pot interfera cu anestezia prin terapeutica preoperatorie sau de reanimare.

Am prezentat două aspecte care se interferează cu drogurile ce au cea mai largă utilizare în anestezie, pentru a sublinia importanţa ce o are depistarea anomaliei, nu numai pentru anestezia prevăzută, dar şi pentru evitarea accidentelor în timpul unei anestezii ulterioare. De aceea, o dată anomalia depistată, bolnavul trebuie prevenit.

BIBLIOGRAFIE

1. Bouchet du N., Brigand le J. — Anesthésie Réanimation, Ed. Flamarion, Paris, 1957.
2. Cristea I., Litarczek G. — *Rev. med.-chir. Iași*, 1968, 3 567.
3. Den Borough M. A., Forster J. F., Lovell R. R., Maplestone P. A. Villiers J. D. — *Brit. J. Anaesth.*, 1962, 34, 395.
4. Ernst E. A., Smith J. C. — *Anesthesiology*, 1967, 28, 1 085.
5. Heem van der P. — *Anesthesiology*, 1966, 27, 84.
6. Kalow W. — *Anesthesiology*, 1964, 25, 377.
7. Kupfer D. — *Anésth. Analg. Réanim.*, 1963, 20, 4.
8. Kupfer D., Tsoucaris D., Tsoucaris G. — *Anesth. Analg. Réanim.*, 1966, 23, 151.
9. Mone I. C., Mathie W. E. — *Anaesthesia*, 1967, 22, 1.
10. Nenițescu C. D. — Chimie generală, Ed. tehnică, București, 1963.
11. Pauling L. — *Anesth. et Analg.*, 1964, 43, 1.
12. Petrila T., Cristea I., Popescu D. — *Chirurgia (Buc.)*, 1968, 17, 10.
13. Saidman L. J., Havard E. S., Eger E. I. — *J. Amer. med. Ass.*, 1964, 190, 1 029.
14. Thomford, N. R., Hamelberg W. E., Wiederholt W. C. — *Surgery*, 66, 850, 1969.
15. Wall P. D. — *Anaesthesiology*, 1967, 28, 46.
16. Young T. M. — *Anaesthesia*, 1957, 12, 473.

PROBLEME DE FARMACOGENETICĂ

B. Cuparencu

Potrivit concepției lui Vogel, farmacogenetica reprezintă studiul variațiilor determinate genetic, care de obicei se relevă printr-un răspuns modificat la medicamente. Deși termenul nu este precis și limitele sînt arbitrare, se poate trage concluzia că el nu cuprinde modificările congenitale provocate de medicamente (alterările produse de thalidomidă) și nici încercările, încă neconcludente din punctul de vedere al rezultatelor de a modifica pe cale medicamentoasă unele perturbări genetice.

Farmacogenetica este o știință relativ nouă, s-a dezvoltat după al doilea război mondial, deși unele observații datează de mai mult. În anul 1910, Fleischmann a arătat că serul unor iepuri are proprietatea de a inactiva atropina. Ulterior s-a constatat că fenomenul se datorește prezenței unei enzime, atropinesteraza, aflată în unele seruri, dar nu în toate. În anul 1943, Sawin și Glick au demonstrat că prezența sau absența enzimei este determinată genetic.

Trebuie remarcat că majoritatea defectelor genetice relevate de medicamente au fost puse în evidență la om. Fără îndoială că și la animale există asemenea defecte, dar studiile legate de patologia umană au fost mult mai numeroase, ceea ce a dus la descoperirea deficiențelor genetice amintite cu precădere la om.

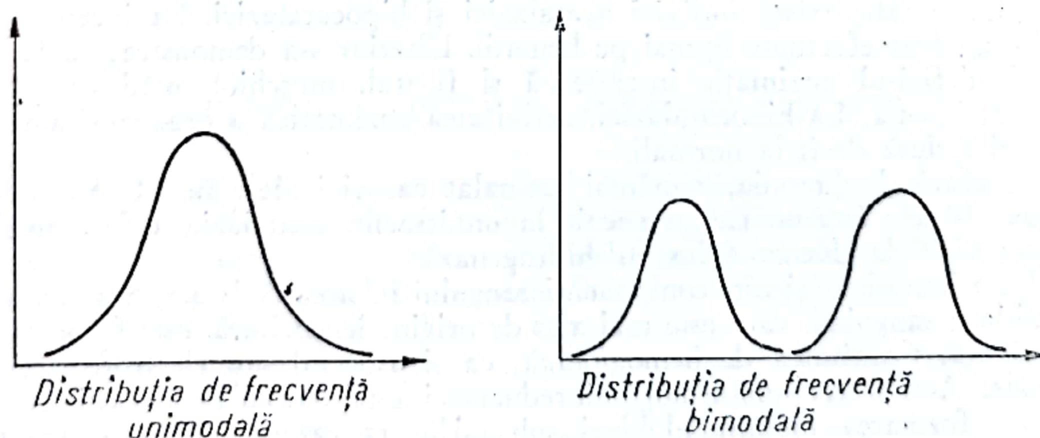


Fig. XIX, 1. Distribuția de frecvență unimodală și bimodală.

Există mai multe etape în descoperirea unui efect farmacogenetic:

a) spre deosebire de reacția marii majorități a indivizilor, care răspund în mod gradat la administrarea medicamentelor, distribuția de frecvență luînd aspectul unei curbe Gauss, în prezența unui efect farmacogenetic, aspectul curbei de distribuție este bimodal, trimodal sau multimodal (fig. XIX, 1). Aceasta ne face să bănuim prezența unui efect farmacogenetic, dar nu ne dă certitudinea sa;

b) descoperirea enzimei care produce efectul anormal și care lipsește sau este anormală la indivizii deficitari;

c) descoperirea modalității de transmitere ereditară a acestui deficit; în această privință, studiile familiilor sînt hotărîtoare.

În cele ce urmează, vom prezenta cîteva din defectele farmacogenetice mai cunoscute și mai bine studiate.

I. ACATALAZIA

În anul 1946, otorinolaringologul Takahara a operat o fetiță de 11 ani de o tumoare a cavității nazale și a sinusului maxilar. După aplicarea pe suprafața sîngerîndă a apei oxigenate, el a observat că aceasta ia un aspect brun-negru și că nu apar bulele obișnuite. Takahara a bănuit că în hematiile și în mucoasa nazală a bolnavei lipsește catalaza, enzima care hidrolizează H_2O_2. Această bănuială a fost confirmată prin studierea hematiilor bolnavei și a celor din familie. Ulterior, aceste studii au fost făcute pe scară largă. S-a arătat că în Japonia există destul de mulți indivizi care suferă fie de o lipsă totală a catalazei eritrocitare, fie că au o activitate enzimatică mai redusă decît indivizii normali.

Aproximativ 60% din persoanele studiate au prezentat o boală gangrenoasă progresivă a cavității bucale, cunoscută astăzi sub denumirea de boala Takahara. Această boală poate îmbrăca forme ușoare, mijlocii și grave, dar este în toate cazurile vindecabilă. Aproximativ 25% din acatalazici sînt asimptomatici.

S-a arătat că distribuția catalazei sanguine se face trimodal: pe lîngă subiecții normali, există indivizi acatalazici și hipocatalazici. La început, cercetările au fost efectuate numai pe hematii. Ulterior s-a demonstrat că la acatalazici, deficitul enzimatic interesează și ficatul, mușchiul, măduva osoasă, cavitatea bucală. La hipocatalazici, activitatea enzimatică a organelor amintite este mai redusă decît la normali.

În afară de Japonia, s-au mai semnalat cazuri izolate în S.U.A., Suedia, Elveția, Israel. Într-un caz, survenit la un israelit, acatalazia a fost asociată cu un deficit de glucozo-6-fosfatdehidrogenază.

S-au investigat și alți componenți sanguini în această boală. S-a arătat că peroxidaza sanguină, care este mai ales de origine leucocitară, este fie normală, fie scăzută. Cantitatea de hemoglobină, ca și aspectul său electroforetic sînt normale. Activitatea methemoglobinreductazei este normală. În schimb, este crescută formarea methemoglobinei sub influența razelor Röntgen, fenomen care nu se observă la celulele normale.

În acatalazie crește cantitatea de coproporfirine și bilirubină excretată prin urină.

Catalaza din hematii nu este de origine hepatică. Pentru aceasta pledează constatarea că administrarea de Sedormid[R], care scade activitatea catalazei hepatice, nu influențează enzima eritrocitară.

Se știe că această enzimă acționează ca și peroxidaza, în prezența unei cantități reduse de substrat.

După Theorell, catalazele și peroxidazele fac parte din același grup al hidroperoxidazelor. Catalaza nu este absolut specifică, acționînd asupra altor substrate în afară de H_2O_2, ca peroxizii de eter, formaldehida, acidul formic, alcoolii cu greutate moleculară mică. De reținut că H_2O_2 rezultă și prin acțiunea unor enzime microbiene (pneumococ, *b. acidophilus*, unii streptococi).

După Takahara, mecanismul etiopatogenic al bolii care îi poartă numele ar fi următorul: masticația produce leziuni ale gingiilor. Prin dezvoltarea florei bacteriene, producătoare de H_2O_2 și în absența enzimei acatalază, leziunile devin gangrenoase. Boala poate fi tratată cu succes prin antibiotice și exereză chirurgicală. După cum s-a mai arătat, numai o parte din acatalazici fac boala Takahara.

Transmiterea ereditară a acestui deficit enzimatic se face autozomal-recesiv. Există trei genotipuri: homozigoți normali, homozigoți acatalazici și heterozigoți hipocatalazici. S-a constatat că la homozigoții anormali există un înalt grad de consanguinitate, ceea ce permite combinarea celor două alele anormale.

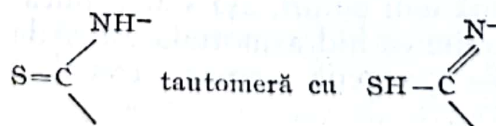
La o populație de 82 de milioane (cît avea Japonia în momentul cercetărilor de mai sus) existau 1 800 de acatalazici și 500 000 de hipocatalazici. Distribuția pe teritoriul țării nu este uniformă. S-ar putea ca japonezii să fi primit gena din Coreea, cu mult timp în urmă.

În Elveția s-au studiat puține cazuri. Frecvența pare să fie de 26 de ori mai mare ca în Japonia, dar toate cazurile au fost asimptomatice. Cercetări mai noi par să evidențieze o eterogenitate genetică și mai mare. S-au descris 5 tipuri de deficit în catalază. Explicațiile acestei eterogenități sînt cu totul ipotetice.

Este interesant de observat că și la cîini și la cobai s-au descris deficite de catalază, cu totul similare celor observate la om, fără ca sănătatea lor să fie afectată.

II. POLIMORFISMUL GUSTULUI PENTRU MEDICAMENTE

S-a observat că dacă se pune un cristal de feniltiouree (feniltiocarbamidă; PTC) pe limbă, unele persoane simt un gust amar, neplăcut, iar altele nu au nici o senzație gustativă. S-a arătat că și alte substanțe, ca derivații de tiouracil și tiopentalul prezintă același fenomen. S-a ajuns la concluzia că gruparea chimică responsabilă pentru gustul amar este:



Persoanele care posedă gust pentru PTC şi substanţele înrudite posedă o genă dominantă autozomală, care lipseşte celor din a doua categorie. Distribuţia de frecvenţă este deci bimodală.

S-a demonstrat că există o legătură între starea glandei tiroide şi polimorfismul gustativ. Astfel, persoanele care nu percep gustul amar al PTC se găsesc mai frecvent printre suferinzii de guşă adenomatoasă. În schimb, indivizii care simt gustul amar sînt mai frecvenţi printre bolnavii de guşă toxică difuză. La atiroidieni, frecvenţa persoanelor care nu percep gustul este mai mare. Legătura dintre starea glandei tiroide şi perceperea gustului, deşi este evidentă, este greu de interpretat. S-a demonstrat că metabolismul metiltiouracilului şi tiopentalului este identic la cele două categorii. Se susţine că modificările biochimice care stau la baza acestui polimorfism sînt localizate la nivelul receptorilor gustativi. Frecvenţa persoanelor care nu percep gustul amar al PTC este variabilă (31,5% la europeni, 2,7% la africani, 10,6% la chinezi). La cimpanzei s-a descris un polimorfism gustativ similar cu frecvenţa de distribuţie asemănătoare europenilor.

III. POLIMORFISMUL ACETILĂRII IZONIAZIDEI

Acetilarea, care se face mai ales în ficat, reprezintă principala cale de metabolizare a izoniazidei (hidrazida acidului izonicotinic). După viteza de acetilare a izoniazidei, oamenii se împart în două categorii distincte: inactivatori rapizi, inactivatori lenţi. Acest polimorfism este moştenit. După unii autori, distribuţia de frecvenţă a inactivatorilor lenţi se face bimodal, după alţii trimodal (cel puţin la japonezi). În primul caz ar exista numai homozigoţi anormali, în al doilea caz şi heterozigoţi cu valori intermediare ale acetilării. În orice caz, transmiterea se face autozomal. Frecvenţa inactivatorilor lenţi este variabilă în diferitele părţi ale globului. Astfel, printre europeni, aproximativ 50% sînt inactivatori lenţi: asiaticii au numai 10%, negrii prezintă valori intermediare. De notat este faptul că acelaşi polimorfism îl prezintă persoanele şi în cazul sulfamidelor şi al hidrazinoftalazinelor. Dar PAS şi acidul p. aminobenzoic (PABA) au o distribuţie unimodală şi sînt acetilate de către altă enzimă.

Proprietăţile fizico-chimice ale acetilazei izoniazidei sulfamidelor şi hidrazinoftalazinelor nu diferă la cele două categorii, de unde se poate presupune că diferenţele semnalate sînt doar de ordin cantitativ. Cu alte cuvinte la inactivatorii lenţi, este vorba de o sinteză diminuată a enzimei, deci nu există nici o diferenţă între eficienţa terapeutică a izoniazidei la inactivatorii rapizi faţă de cei lenţi.

Procentul celor cu leziuni nervoase periferice este semnificativ mai mare la inactivatorii lenţi. După unii autori, aşa s-ar explica şi polinevrita semnalată uneori în urma tratamentului cu hidrazinoftalazine. Administrarea de piridoxină (vitamina B_6) conferă o protecţie aproape completă contra acestor efecte secundare.

IV. PSEUDOCOLINESTERAZA SERICĂ ȘI HIPERSENSIBILITATEA LA SUCCINILCOLINĂ

Succinilcolina (succinildicolina, suxametoniul, Myorelaxin(R)) este un miorelaxant cu mecanism de acțiune prin depolarizare, care produce la omul normal o relaxare musculară și o apnee de 2—8 minute (în majoritatea cazurilor 2—3 minute). La scurt timp după introducerea sa în practica medicală s-a observat însă că la unii subiecți, apneea și miorelaxarea durează mult mai mult (2—3 ore). Cum durata acțiunii succinilcolinei este în funcție de activitatea pseudocolinesterazei serice, s-a bănuit că în sîngele persoanelor care prezintă o durată anormală a acțiunii medicamentului, activitatea enzimei este scăzută, ceea ce s-a confirmat. Trebuie reținut însă că activitatea pseudocolinesterazei serice, sintetizată în ficat, depinde de integritatea morfofuncțională a acestui organ. Scăderea activității pseudocolinesterazei se mai întîlnește în malnutriție, hiperpirexie, insuficiență cardiacă, cancere (mai ales ale colonului), uremie, catatonie.

Creșterea activității enzimatice se semnalează în obezitate, nefroză, gușă nodulară. Prin urmare, numai după excluderea cauzelor amintite ale modificării activității enzimatice se poate bănui existența unui deficit enzimatic condiționat genetic.

Pseudocolinesteraza este o enzimă puțin specifică: ea hidrolizează o serie de esteri ai colinei (butirilcolina, propionilcolina, benzoilcolina, succinilcolina, unii esteri ai acidului benzoic, ca procaina).

În urma acțiunii catalitice a pseudocolinesterazei, succinilcolina se transformă în produsul său intermediar, succinilmonocolină, care apoi se transformă în acid succinic și colină.

Eliminîndu-se cauzele dobîndite ale insuficienței enzimatice, s-a ajuns la concluzia că hipersensibilitatea la succinilcolină se datorește unui deficit enzimatic condiționat genetic. Transmiterea se face autozomal-recesiv. Heterozigoții nu sînt mai sensibili la succinilcolină decît homozigoții normali, dar au niveluri enzimatice ceva mai scăzute. După Kaufman și colab., nivelurile pseudocolinesterazei serice sînt următoarele: homozigoții normali mai mult de 60 u./ml (60—125 u./ml); heterozigoții 26—90 u./ml; homozigoții anormali sensibili la succinilcolină mai puțin de 35 u./ml (1 u. reprezintă cantitatea care produce 1 ml CO_2 în timp de 1 minut la 37°).

Există deci o suprapunere a valorilor enzimatice la cele trei grupuri. De aceea, de multe ori, genotipul unui bolnav nu poate fi apreciat după activitatea enzimatică. Se poate bănui că sinteza proteinenzimei decurge cu viteză normală, dar apar enzime cu proprietăți modificate. Într-adevăr, Kalow și colab. au arătat că la homozigoții anormali, enzima normală este înlocuită cu o moleculă proteică diferită, cu activitate enzimatică redusă. Această enzimă „atipică" are o afinitate mai redusă față de unele substrate, nu apare electroforetic și cromatografic diferită, este mai puțin sensibilă la numeroși inhibitori. Dibucaina (nupercaina) inhibă mult mai puternic enzima normală decît cea atipică.

După Kalow și Genest, o mărime caracteristică pentru enzimă, independentă de concentrația ei, este numărul de dibucaină (DN) prin care se înțelege gradul inhibiției (în procente) produs de dibucaină 10^{-5} M. Un alt inhi-

bitor diferențial este bromura de dimetilcarbamat de 2-hidroxi-5-fenilbenziltrimetilamoniu (RO2-0683). La concentrația de 10^{-8}M, diferențierea homozigoților normali, a celor anormali și a heterozigoților este mai exprimată decît pentru dibucaină. Deoarece dificultățile de lucru sînt mai mari, acest inhibitor nu a intrat în practica curentă. Un alt inhibitor diferențial este fluorura de sodiu. Prin numărul de fluorură (FN) se înțelege inhibiția procentuală produsă de concentrația de 5×10^{-5} M. Deoarece uneori există o discordanță între DN și FN, s-a tras concluzia că există două enzime atipice, una rezistentă la dibucaină, alta la NaF. Prin electroforeza pe gel de amidon s-a mai descoperit o altă enzimă atipică, denumită C_5, mai activă decît enzima normală. Dar această enzimă nu are importanță clinică.

Ca o concluzie la cele spuse mai sus, se pot recunoaște șase genotipuri cu ajutorul dibucainei și a NaF: homozigoți pentru gena care determină enzima normală, homozigoți pentru enzima atipică, rezistentă la dibucaină, și homozigoți pentru enzima rezistentă la NaF, heterozigoți pentru cele 3 gene luate două cîte două. Transmiterea se face autozomal-recesiv.

S-a arătat însă că există un număr redus de cazuri în care determinările enzimatice dau valori corespunzătoare homozigoților anormali, dar genotipul părinților îi indică drept heterozigoți. Această discordanță se explică prin existența unei gene „tăcute" sau „mute" (silent), care determină absența completă a activității enzimatice. Părinții aparent normali pot să fie heterozigoți pentru o genă normală și una „tăcută", în timp ce copiii au putut să aibă o genă anormală și una tăcută. Bineînțeles că din punctul de vedere al genotipului, acești subiecți se vor comporta ca homozigoți normali. S-au descris și cazuri de homozigoți pentru genele tăcute, care se caracterizează prin absența completă a activității pseudocolinesterazice a serului.

S-a constatat că frecvența heterozigoților la englezi și canadieni este de 3,8%, iar cea a homozigoților 1,9%. La portughezi, greci, berberi, germani, aborigenii din Australia, frecvența este similară. La locuitorii din insula Tristan da Cunha, frecvența este mai scăzută.

V. ANEMIA HEMOLITICĂ LA PRIMACHINĂ

Există mai multe medicamente după a căror administrare s-au semnalat anemii hemolitice (tabelul XIX, 1). O anemie hemolitică similară apare la unele persoane care consumă fasolea fava (*Vicia fava*). Cum anemia la primachină este cea mai răspîndită, acest grup de boli poartă denumirea de „anemia hemolitică la primachină". Tabloul clinic poate fi rezumat astfel: la 2—3 zile de la administrarea medicamentului, urina eliminată este colorată, uneori chiar neagră. În cazuri mai grave apar dureri abdominale și toracice, stare de slăbiciune, icter. În multe hematii apar corpusculii Heinz. Scad numărul de hematii, hematocritul, concentrația hemoglobinei. Această stare durează o săptămînă; urmează remisiunea, chiar dacă se continuă tratamentul. În această etapă apare reticulocitoza. Testul Coombs este negativ, fragilitatea hematiilor la soluțiile hipotone este nemodificată. În afara administrării medicamentelor, bolnavii sînt complet asimptomatici. S-a constatat că hematiile marcate cu

TABELUL XIX, 1

Principalele medicamente care produc anemia hemolitică

Grup	Medicamente
Analgezice	Acetanilida, acidul acetilosalicilic, acetofenetidina (fenacetina), fenazona (antipirina, amidopirina, piramidonul)
Sulfamide şi sulfone	Sulfanilamida, sulfapiridina, N_2 — acetilsulfanilamida, salicilazosulfapiridina, sulfametoxipiridazina
Antimalarice	Primachina, pamachina, mepacrina (atebrina)
Agenţi antibacterieni nesulfamidici	Furazolidona, nitrofurantoina (furadantin), cloramfenicol, PAS
Varia	Naftalina, analogii hidrosolubili ai vitaminei K, Probenecid, trinitrotoluen, albastru de metilen, dimercaptopropanol, fenilhidrazina, chinina şi chinidina

Cr^{51} de la un subiect sensibil la primachină, transfuzate la un subiect normal, supravieţuiesc normal pînă cînd se administrează primachina. În acest moment are loc o hemoliză rapidă. Se lizează numai hematiile de 63—66 de zile, dar nu cele de 8—31 de zile. Se explică astfel de ce hemoliza este de scurtă durată (se distrug la început hematiile mai „bătrîne"; rămîn în viaţă cele mai „tinere" care sînt mai puţin sensibile).

S-a mai observat că dacă hematiile normale sau cele provenite de la o persoană sensibilă sînt incubate *in vitro* într-un mediu de suspensie care nu conţine glucoză, conţinutul lor în glutation redus (GSH) scade.

În prezenţa glucozei, GSH scade numai la persoanele sensibile. Scăderea GSH este un fenomen secundar inhibiţiei activităţii glucozo-6-fosfatdehidrogenazei, enzimă care catalizează transformarea glucozo-6-fosfatului (G-6-P) în acid-6-fosfogluconic. NADPH, rezultat prin oxidarea G-6-P, serveşte printre altele la reducerea glutationului oxidat (GSSG) în GSH. Conţinutul scăzut în GSH este cauza hemolizei. Din cele spuse pînă în prezent se poate trage concluzia că în anemia hemolitică la primachină defectul metabolic primar îl reprezintă activitatea scăzută a glucozo-6-fosfatdehidrogenazei. În această boală s-au semnalat şi alte defecte metabolice ale hematiilor. Scade consumul de oxigen şi producţia de CO_2, reducerea methemoglobinei în prezenţa albastrului de metilen, proces legat de NADPH. Raportul NADP/NADPH, raportul NAD/NADH, activitatea GSH-reductazei sînt crescute. După unii autori ar creşte şi activitatea aldolazei, gliceraldehidfosfatdehidrogenazei şi lacticdehidrogenazei. Scade activitatea NADPH-diaforazei, acid fosfomonoesterazei şi a pirofosfatazei.

Cercetările biochimice au decelat mai multe variante ale glucozo-6-fosfatdehidrogenazei; s-a constatat de asemenea că între negrii normali şi albii nor-

mali nu există diferențe, cu excepția că unii negri au o componentă rapidă din punct de vedere electroforetic, cu funcție normală — componenta A. Negrii homozigoți enzimo-deficienți posedă totdeauna componenta A cu stabilitate normală sau ceva mai redusă. Enzima din sîngele albilor sensibili are o afinitate ceva mai crescută pentru G-6-P și pentru alt substrat 2-dezoxiglucozo-6-fosfat. Mobilitatea electroforetică este mai mare decît la normali, dar nu este sigur că fracțiunea este identică cu componența A. S-a mai descoperit tipul Oklahoma I, cu activitate de 3—9% din activitatea normală. Enzima este foarte stabilă. Migrarea electroforetică este normală. Tipul Chicago I se caracterizează printr-o afinitate normală, pH-ul optim normal, dar enzima este foarte labilă. Enzima caracteristică pentru tipul Seattle I are o mobilitate electroforetică scăzută și 8—15% din activitatea enzimatică normală.

Se poate conchide că deficitul enzimatic este consecința modificării structurii moleculare a enzimei.

Nu se cunoaște modalitatea prin care medicamentele relevă deficitul de glucozo-6-fosfatdehidrogenază. În orice caz, medicamentele cu acțiune hemolitică nu au efect decît asupra hematiilor deficiente.

S-a observat că la albi, tabloul simptomatic al bolii este mai grav decît la negri. Albii fac hemoliză la PAS, chinină, chinidină și cloramfenicol, care nu determină simptome de hemoliză la negri.

Transmiterea ereditară se face prin cromozomul X recesiv. La bărbați, frecvența este mai mare, fiindcă gena nu este compensată. La femei, boala apare numai atunci cînd ambii cromozomi X conțin gena mutantă. Gena este situată pe cromozom între locusul unde este așezată gena pentru gruparea sanguină X_g și cea care condiționează cecitatea la culori. Frecvența de distribuție a genelor mutante este extrem de inegală. În Europa centrală este foarte rară. În Orientul Apropiat și la negrii americani, frecvența este mare, aproximativ 3,5% din populație. Pe întreg globul, aproximativ 100 000 000 de oameni sînt purtători de gene mutante. S-a observat că heterozigoții sînt mai rezistenți la malarie. Frecvența genelor anormale este mai mare în regiunile în care malaria este endemică (Sardinia, unele regiuni din Grecia). Se susține de foarte mulți autori că frecvența mare a genei se datorește tocmai caracterului protector față de malarie.

Există date care arată că anemia hemolitică congenitală nesferocitară s-ar explica printr-un deficit de glucozo-6-fosfatdehidrogenază. În cazuri rare s-a pus în evidență un transfer transplacentar de medicamente hemolitice administrate în timpul graviditătii.

VI. HEMOGLOBINA ZÜRICH

La 2 membri dintr-o familie de elvețieni s-a constatat că după administrarea de sulfamide apăreau episoade hemolitice. Acești bolnavi conțin o Hb anormală, care reprezintă 20—30% din cantitatea totală, avînd o mobilitate electroforetică între Hb A și Hb S, rezistență mică la alcalii și nu se oxidează

ușor în methemoglobină. S-a constatat că lanțul B al Hb Zürich este anormal, histidina din poziția 63 fiind înlocuită cu arginină. Schimbarea are urmări importante, întrucît prin histidina 63 se leagă hemul de lanțul B. Transmiterea bolii se face autozomal-dominant.

VII. REZISTENȚA LA ANTICOAGULANTE CUMARINICE

S-a descoperit o familie la care unii membri prezentau o rezistență anormală la cumarina sodică (Warfarin[R]). Această rezistență s-ar explica prin existența unei enzime anormal controlată genetic. Transmiterea ereditară se află sub controlul unei gene autozomale dominante sau al uneia legate de cromozomul X.

VII. PORFIRIILE MEDICAMENTOASE

După unii autori, aceste manifestări clinice nu se includ în capitolul tulburărilor farmacogenetice, fiindcă porfiriile există și în lipsa administrării medicamentelor, fiind doar agravate de acestea. S-au descris mai multe clase de medicamente capabile să determine porfirii, ca acetamidele dialchil-substituite, acetilcarbamidele, barbituricele substituite cu o grupare alil, derivații de colidină, griseofulvina. Toate medicamentele amintite stimulează sinteza hepatică a sintetazei acidului ß-aminolevulinic, enzimă mitocondrială, care începe lanțul biosintetic al porfirinelor; ea are o importanță capitală, deoarece controlează viteza de reacție. Se formează cantități mai mari de acid ß-aminolevulinic și porfibilinogen, care este precursorul monopirolic al porfirinelor. Există și alte medicamente care produc porfirie la om, printr-un mecanism încă neelucidat: sulfamide, clorochină, anticoagulante, tranchilizante, stilbestrol și anticoncepționale administrate *per os*.

CONCLUZII

1. Administrarea unor medicamente poate determina în unele cazuri apariția unor manifestări patologice, avînd ca bază un deficit metabolic, care se transmite ereditar. În marea majoritate a cazurilor, medicamentele nu fac altceva decît să releve existența acestui deficit metabolic ereditar. În cazuri mai rare, medicamentele agravează o boală preexistentă, prin exagerarea deficitului metabolic ereditar.

2. Medicamentele pot servi ca teste pentru explorarea disfuncțiilor metabolice ereditare.

3. Se impune cu stringență efectuarea unor cercetări de farmacogenetică și la noi în țară. După cunoștințele noastre, aceste investigații s-au făcut pînă în prezent cu totul sporadic.

ușor în methemoglobină. S-a constatat că lanțul B al Hb Zürich este anormal, histidina din poziția 63 fiind înlocuită cu arginină. Schimbarea are urmări importante, întrucît prin histidina 63 se leagă hemul de lanțul B. Transmiterea bolii se face autozomal-dominant.

VII. REZISTENȚA LA ANTICOAGULANTE CUMARINICE

S-a descoperit o familie la care unii membri prezentau o rezistență anormală la cumarina sodică (Warfarin[R]). Această rezistență s-ar explica prin existența unei enzime anormal controlată genetic. Transmiterea ereditară se află sub controlul unei gene autozomale dominante sau al uneia legate de cromozomul X.

VII. PORFIRIILE MEDICAMENTOASE

După unii autori, aceste manifestări clinice nu se includ în capitolul tulburărilor farmacogenetice, fiindcă porfiriile există și în lipsa administrării medicamentelor, fiind doar agravate de acestea. S-au descris mai multe clase de medicamente capabile să determine porfirii, ca acetamidele dialchil-substituite, acetilcarbamidele, barbituricele substituite cu o grupare alil, derivații de colidină, griseofulvina. Toate medicamentele amintite stimulează sinteza hepatică a sintetazei acidului ß-aminolevulinic, enzimă mitocondrială, care începe lanțul biosintetic al porfirinelor; ea are o importanță capitală, deoarece controlează viteza de reacție. Se formează cantități mai mari de acid ß-aminolevulinic și porfibilinogen, care este precursorul monopirolic al porfirinelor. Există și alte medicamente care produc porfirie la om, printr-un mecanism încă neelucidat: sulfamide, clorochină, anticoagulante, tranchilizante, stilbestrol și anticoncepționale administrate *per os*.

CONCLUZII

1. Administrarea unor medicamente poate determina în unele cazuri apariția unor manifestări patologice, avînd ca bază un deficit metabolic, care se transmite ereditar. În marea majoritate a cazurilor, medicamentele nu fac altceva decît să releve existența acestui deficit metabolic ereditar. În cazuri mai rare, medicamentele agravează o boală preexistentă, prin exagerarea deficitului metabolic ereditar.

2. Medicamentele pot servi ca teste pentru explorarea disfuncțiilor metabolice ereditare.

3. Se impune cu stringență efectuarea unor cercetări de farmacogenetică și la noi în țară. După cunoștințele noastre, aceste investigații s-au făcut pînă în prezent cu totul sporadic.

B 777

BIBLIOGRAFIE

1. Beutler Ernest — Glucose-6-phosphate dehidrogenase deficiency, p. 1 060—1 086, în The metabolic basis of inherited discase, edit. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaardem şi D. S. Fredrickson, Ed. Mc. Graw-Hill Book, New York-Toronto-Sydney-Londra, 1966.
2. Evans D., Price A. — Pharmacogenetics, *Amer. J. Med.*, 1963, 34, 639—662.
3. Lehmann H., Liddell J. — Pseudocholinesterase deficiency and some other pharmacogenetic disorders, in The metabolic basis of inherited disease, Ed. Mc. Graw-Hill Book, New York-Toronto-Sydney-Londra, 1966, p. 1 356—1 369.
4. Peters J. H. — Genetic factors in relation to drugs, *Ann. Rev. Pharmacol.*, 1968, 8, 427—452.
5. Scholz W. — Klinische Bedeutung der Pharmakogenetik, *Dtsch. med. Wschr.*, 1967, 92, 18, 852—856.
6. Wyngaarden J. B., Howell R. P. — Acatalasia, în The metabolic basis of inherited disease, Ed. Mc. Graw-Hill Book, New York-Toronto-Sydney-Londra, 1966, p. 1 343—1 355.

Redactor de carte: Dr. OVIDIU OPRIAN
Tehnoredactor: MARILENA TOMESCU

Bun de tipar: 01.02.1971. Formatul: 16/70×100. Hîrtie: tipar înalt A/56. Coli de tipar: 21.

Tiparul executat de Întreprinderea poligrafică Sibiu
Şoseaua Alba Iulia nr. 40.

